



Universidade de Aveiro Departamento de Química
2015

Soraia de Sá Ferreira

**Cultivo da *Salicornia ramosissima* da
Ilha dos Puxadoiros®**



Universidade de Aveiro Departamento de Química
2015

Soraia de Sá Ferreira

**Cultivo da *Salicornia ramosissima* da
Ilha dos Puxadoiros®**

Relatório de estágio apresentado à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia – Especialidade Biotecnologia Alimentar (2º Ciclo), realizada sob a orientação científica da Doutora Ivonne Delgadillo, Professora Associada com Agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro e co-orientação de Filipe Pedrosa, Biólogo da empresa Ilha dos Puxadoiros®.

Dedico este trabalho àqueles que acreditam em mim e na ciência da Vida, ainda por descobrir, ainda por alcançar mas sempre a caminhar na avidez do Futuro, na placidez do presente e na penumbra do passado!

O júri

Prof. Doutor Jorge Manuel Alexandre Saraiva

Investigador Auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro (Presidente)

Prof. Doutora Ivonne Delgadillo Giraldo

Professora Associada com agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro (Orientadora)

Prof. Doutora Maria Eduarda da Cunha Pereira

Professora Associada do Departamento de Química da Universidade de Aveiro (Arguente)

Agradecimentos

Gostaria de agradecer em primeiro lugar à minha orientadora Professora Ivonne Delgadillo e ao Henrique Pinto Dias, sócio-gerente do Canal do Peixe pelos inúmeros conhecimentos transmitidos, por acreditarem em mim e por fazerem deste meu relatório de estágio um projeto possível. Agradeço sobretudo por tornarem um dos meus maiores sonhos, que a princípio me parecia inatingível numa realidade exequível.

Aos colaboradores da Ilha dos Puxadoiros® por sempre me auxiliarem e transmitirem os seus conhecimentos sempre que assim o era necessário.

Agradeço também à professora Sónia Gouveia pela incomparável ajuda na execução estatística.

À Anne-Marie por ser tão prestável e estar sempre pronta a ajudar os alunos que pelo laboratório da Professora Ivonne passam e à Elisabete Aguiar que me foi apoiando e dando umas dicas ao longo deste trabalho. Ao LCA por ter disponibilizado tão prontamente os seus serviços para análises de metais pesados.

Agradeço aos meus amigos, família de praxe, pessoal da residência, pessoas essas que me acompanharam ao longo deste percurso e que estiveram sempre lá para um “tu és capaz” breve e conciso, mas real e sentido do mais profundo do profundo do infinito.

Pelas palavras “tu só não consegues aquilo que não queres” agradeço a toda a minha família, em especial aos meus pais que sempre me incentivaram a ir mais além e a não desistir, às minhas irmãs do coração e de sangue Marilisa e Tatiana, ao meu sempre adorado e pequeno, mas graúdo irmão Marcelo e aos mais pequenos, Lucas e Leo (os meus sobrinhos adorado e amado).

Não menos marcante, à AIESEC por me auxiliar no desenvolvimento das minhas *soft-skills*, no conhecimento de mim mesma e no facto de me fazer acreditar que nós como jovens promissores, também temos voz e conseguimos mudar o mundo e o mundo em nós.

A todos, por tudo e para sempre um grande: **Bem haja!**

Palavras-chave

Sistema lagunar de Aveiro, Ilha dos Puxadoiros®,
Salicornia ramosissima.

Resumo

O estágio realizado teve como premissa principal perceber o comportamento da planta face ao seu crescimento em altura da própria planta e em número em função de diferentes épocas de sementeira, e de condições de cultivo, nomeadamente de tipos de solo.

O trabalho realizado inclui todo o processo desde a apanha, preparação das sementes e dos campos, e a sementeira propriamente dita. Foi acompanhado o crescimento das plantas em 3 alturas diferentes, por contagem do número de plantas e do comprimento das plantas aéreas. Igualmente foram realizadas análises da granulometria dos solos. Determinaram-se os metais pesados nos solos e nas plantas, assim como os açúcares após a hidrólise e derivatização das amostras liofilizadas, tanto da raíz como da parte aérea.

Foi possível concluir que a planta nasce com maior abundância em solos franco-siltosos do que em solos franco-arenosos, onde o seu crescimento é muito pobre ou mesmo nulo.

Os valores de cádmio e chumbo encontram-se a níveis adequados para o consumo humano.

Coloca-se a hipótese da existência de arabino-glucoronoxilanas como constituinte da raíz desta planta.

Keywords

Aveiro lagoon, Ilha dos Puxadoiros®, *Salicornia ramosissima*.

Abstract

The internship had the goal to study and understand the behavior of the plant concerning the number of growing plants and their growth as factor of different seasons of seeding and crop conditions, namely the soil.

The work included the entire process from seed harvesting, preparing seeds and fields and sowing itself. The growth of seedlings was monitored at 3 different dates, by counting the number of plants and the length of aerial parts. Also, soil particle size analyzes were performed. Additionally, determination of heavy metals in soils and plants and sugars after hydrolysis and derivatization of freeze dried plant samples were undertaken.

I was concluded that the plant did growth with greater abundance in silt loam soils than in sandy loam soils, where its growth is very poor or even null.

Cadmium and lead contents are at adequate levels for human consumption.

Furthermore, there is the hypotheses of the existence of glucoarabino-xylans as root constituents in the plant.

Índices

Índice Geral

Índice de figuras	iv
Índice de tabelas	v
Abreviaturas.....	vi
I. Objetivos do estágio e sumário	2
II. Revisão Bibliográfica.....	3
2.1. Enquadramento Geográfico	4
2.1.1. Sistema lagunar de Aveiro.....	4
2.2. Caracterização das marés	6
2.3. Solos.....	8
2.4. Plantas halófitas	9
2.4.1. Salicórnia	10
2.4.1.1. S. ramosíssima J. Woods (Figura 9).....	15
2.5. Espectroscopia de Infravermelho médio.....	16
2.6. Equipamento FTIR (do inglês Fourier Transform Infrared Spectroscopy) ou espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier.	17
2.7. Espectroscopia de massa com plasma induzido acoplado (do inglês, inductively coupled plasma mass spetroscopy – ICP – MS) e espectroscopia de emissão atómica com plasma induzido acoplado (do inglês, Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry ICP – OES).....	18
III. Estágio	19
IV. Material e métodos	22
V. Discussão e Resultados	32
5.1. Explicação estatística dos valores das alturas das plantas	33
5.2. Comparação das alturas das plantas com 6 meses	37
5.3. Número de plantas	38
5.4. Análise granulométrica dos solos	39

5.5.	Análise de metais pesados	42
5.5.1.	Solos	42
5.5.2.	Plantas.....	43
5.6.	Análise dos picos de IV médio	44
5.7.	Análise de açúcares.....	46
VI.	Conclusão	48
VII.	Trabalhos futuros	51
VIII.	Referências bibliográficas	53
IX.	Anexos	I
Anexo 1 – Tempos de retenção para a análise à amostra 1 das partes aéreas de açúcares.....	I	
.....	IV	
Anexo 4 - Tempos de retenção para a análise à amostra 2 das raízes de açúcares.....	IV	
Anexo 5 – Valores das absorvâncias das amostras de raízes e partes aéreas, para análise de ácidos urónicos.	V	
Anexo 6 – Reta de calibração para os ácidos urónicos.....	V	
Anexo 7 – Gráfico das médias de altura das plantas em cada um dos quadrados.....	VI	
Anexo 8 – Gráfico das médias do número de plantas em cada um dos quadrados.	VI	

Índice de figuras

Figura 1– Evolução do sistema lagunar de Aveiro após as obras de reparação.(3)	4
Figura 2 – Mapa da Sistema lagunar de Aveiro com a representação dos respetivos canais.(8)	6
Figura 3 – Protuberâncias da Terra formadas relativamente à Lua	7
Figura 4 - Classes da textura do solo relativamente às proporções de areia, argila e silte (adaptado de (17))	9
Figura 5 A) Salicornia de cor verde no início do seu amadurecimento; B) Salicornia de cor verde-avermelhada nos estágios finais do seu amadurecimento.	12
Figura 6 – Exemplificação do atrofiamento do caule/ramos da salicórnia.	13
Figura 7 – Representação de uma cimeira dicasial. (31)	13
Figura 8 - A) Salicornia ramosissima (Fonte: Soraia Ferreira, Campo I, Ilha dos Puxadoiros®); B)Segmento fértil (Fonte: Soraia Ferreira, lupa eletrónica com máquina fotográfica acoplada, Bresser, x 20) ; C) Semente de salicórnia (Fonte: Soraia Ferreira, lupa eletrónica com máquina fotográfica acoplada, Bresser, x 80); D) Ganchos da semente de salicórnia (Adaptado de Shepherd et al.(32))	14
Figura 9 – Fotografia da Salicornia ramosissima. (Fonte: Soraia Ferreira, Campo I, Ilha dos Puxadoiros®)	15
Figura 10 – Regiões de infravermelho no espectro eletromagnético. (adaptado de (42))	17
Figura 11- Imagem de satélite da Ilha dos Puxadoiros®, com as respetivas coordenadas.	20
Figura 12- Imagem satélite dos campos de salicórnia na Ilha dos Puxadoiros®, identificação dos campos:	23
Figura 13 – Representação da forma como foram recolhidas as amostras em cada um dos quadrados. Quadrados de 0,1 m2 para contagem do número de plantas; Pontos de recolha das plantas de salicórnia; Ponto de recolha da amostra de solo para análise granulométrica; Ponto de recolha de solos para análise de metais pesados; Estacas para medir a altura das plantas.	24
Figura 14 – Crescimento médio das plantas nos diferentes Grupos de plantas medido no tempo t1. a) Gráfico de t1 – Campos S1 (verde), S2 (roxo), S2+ (laranja) e Campos Controlo, C (castanho); b) Análise das diferenças existentes entre os grupos do Campo S2 pelo método de Tukey HSD para o tempo 1.	33

Figura 15 - Crescimento médio das plantas nos diferentes Grupos de plantas medido no tempo t8. a) Gráfico de t8 – Campos S1 (verde), S2 (roxo), S2+ (laranja) e Campos Controlo, C (castanho); b) Análise das diferenças existentes entre os S2-1, S2-2 e S2-3 pelo método de Tukey HSD para t8.	34
Figura 16 - Crescimento médio das plantas nos diferentes Grupos de plantas medido no tempo t16. a) Gráfico de t16 - Campos S1 (verde), S2 (roxo), S2+ (laranja) e Campos Controlo, C (castanho); b) Análise das diferenças existentes entre os S2-1, S2-2 e S2-3 pelo método de Tukey HSD para t16.	35
Figura 17 – Variação do crescimento das plantas ao longo do tempo - Campos S1 (verde), S2 (roxo), S2+ (laranja) e Campos Controlo, C (castanho)	36
Figura 18 – Altura média das plantas com 6 meses de idade.	37
Figura 19 – Variação do número de plantas ao longo do tempo; a) Gráfico da variação do número de plantas - Campos S1 (verde), S2 (roxo), S2+ (laranja) e Campos Controlo, C (castanho); b) Análise das diferenças existentes entre os grupos do Campo S2 pelo método de Tukey HSD para o tempo 1.	38
Figura 20 – Textura do solo para o solo Controlo.	39
Figura 21 – Textura do solo para o solo S1.	39
Figura 22 – Textura do solo para o solo S2 sem salicórnia.	40
Figura 23 – Textura do solo para S2 com salicórnia.	40
Figura 24 – Textura dos solos para S2+.	41
Figura 25 - Espectros de infravermelho médio apara cada um dos Campos; a) S2+ - 2 meses; b)S2 – 2 meses e meio; c)S1 – 4 meses; d) Controlo	44

Índice de tabelas

Tabela 1 – Classificação taxonómica da planta halófito Salicórnia (21).....	11
Tabela 2 – Valores de metais pesados nos diferentes solos.	42
Tabela 3 - Valor de metais pesados para a amostra fresca de salicórnia.	43
Tabela 4 – Atribuição de bandas de infravermelho médio.	45
Tabela 5 – Valores de percentagem molar para diferentes açúcares presentes na salicórnia.	46

Abreviaturas

S. - *Salicornia*

PUFAS – *polyunsaturated fatty acids* (ácidos gordos polinsaturados)

AG – ácidos gordos

HC – hidratos de carbono

IV – Infravermelho

LCA – Laboratório central de análises da Universidade de Aveiro

I. Objetivos do estágio e sumário

Esta dissertação faz parte de um grupo de estudos, de nível universitário, desenvolvido em conjunto entre a Universidade de Aveiro e a empresa Canal do Peixe, no âmbito do Estágio Curricular na área de Biotecnologia ramo alimentar.

Este teve como objetivos principais acompanhar o crescimento da planta desde a sementeira até à fase de recolha para comercialização, em campos e verificar a presença de metais pesados nos solos e nas plantas, a fim de encontrar as melhores condições para o seu cultivo.

Outro dos objetivos foi apurar quando a planta está ótima para recolha, para conseguir ter uma oferta estendida ao longo do ano.

O estágio curricular também teve como finalidade mais abrangente proporcionar uma experiência real no mundo do trabalho, contribuindo assim para a descoberta de novos horizontes, interagindo com pessoas de diferentes áreas e conhecimentos, desenvolvendo o espírito crítico e colaborando em trabalhos de equipa para atingir os objetivos da empresa previamente delineados.

No primeiro capítulo falar-se-á sobre os objetivos e resumo do estágio.

No segundo capítulo, na revisão bibliográfica, abordar-se-á o sistema lagunar de Aveiro, as suas marés e os solos, debruçando-se depois sobre as plantas halófitas, nomeadamente a *Salicornia ramosissima*.

No terceiro capítulo tratar-se-á sobre a história e localização da empresa, assim como do trabalho desenvolvido nesta empresa.

No quarto capítulo dar-se-á conhecimento das metodologias que se irão utilizar para os estudos sobre a salicórnia.

No quinto e sexto capítulos expor-se-ão a discussão aos resultados obtidos, demonstrando, depois, a conclusão com a qual se deparou.

A Canal do Peixe é uma empresa sediada no centro de Aveiro (1), cuja atividade principal é a produção de sal, de modo tradicional, assim como a de flor-de-sal, salicórnia e atividades de aquicultura na Ilha dos Puxadoiros® (2)

II. Revisão Bibliográfica

2.1. Enquadramento Geográfico

2.1.1. Sistema lagunar de Aveiro

Um sistema lagunar é um aglomerado de água costeira homogénea, relativamente rasa, separada do oceano por uma barreira, geralmente de areia ou cascalho e ligada ao mesmo por uma ou mais passagens pequenas e normalmente orientadas paralelamente à costa. Estas foram contruídas por ação das ondas, superior à preia-mar. (3)(4)

A partir do século X, a deposição de sedimentos levou à formação de ilhotas e pântanos. Contudo, o porto foi-se deslocando relativamente à cidade de Aveiro.(5)

No final do século XVII, a laguna de Aveiro encontrava-se praticamente isolada do Oceano Atlântico, sendo que em 1802 esta tinha uma micro - maré que variava entre os

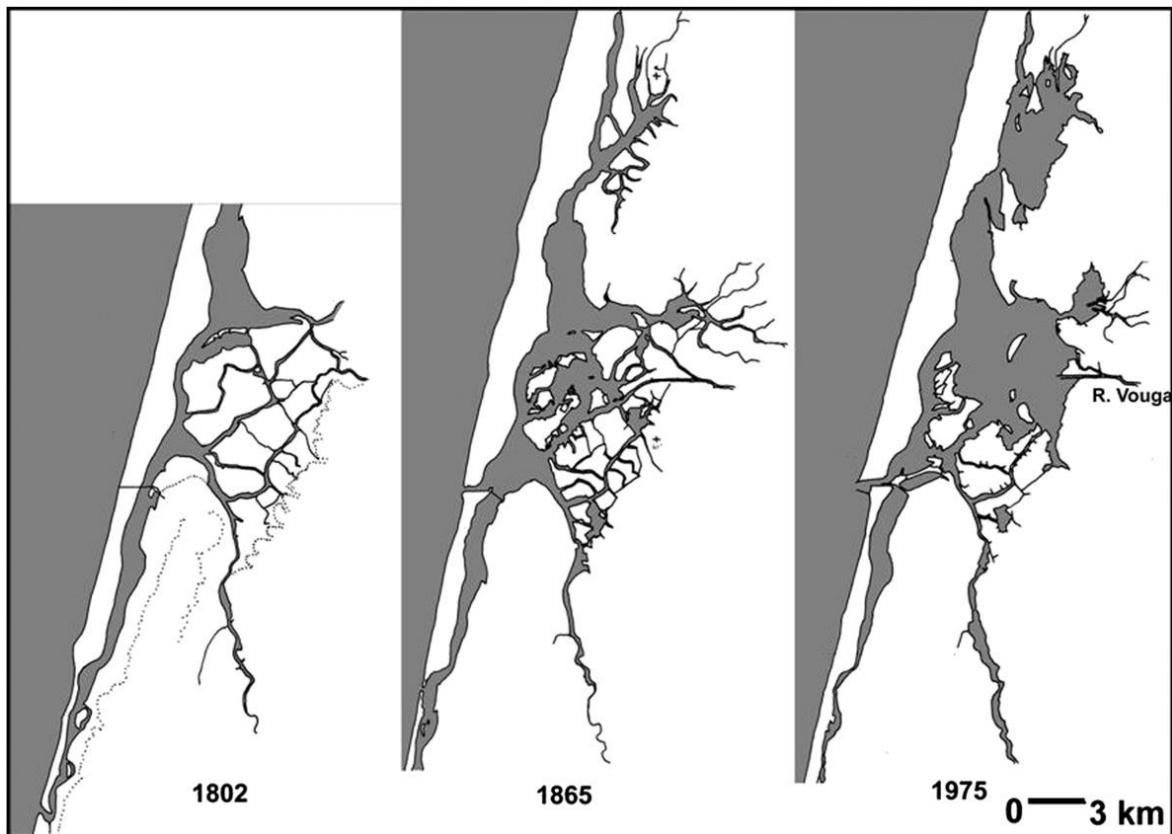


Figura 1– Evolução do sistema lagunar de Aveiro após as obras de reparação.(3)

0,07 e os 0,13 m. Passados 6 anos, a 18 Km a norte do canal natural, construiu-se uma entrada artificial de 350 m de largura, aproximadamente e uma área transversal de cerca de 1000 m². (Figura 1)(3)(6)

O resultado foi o aumento da amplitude de maré para valores superiores a 1 m, com o regresso à produção de sal e das populações à cidade de Aveiro, tal como o estabelecimento de zonas portuárias e desenvolvimento das atividades económicas na zona. (3)

Hoje em dia, com as obras feitas na rede de canais para manter a largura e profundidade suficientes para a navegação, o volume de prisma de maré chega a atingir os $106 \times 10^6 \text{ m}^3$ e a área transversal da zona de admissão de água é agora 5 vezes superior à de 1808. (3)

O sistema lagunar de Aveiro é um acidente geográfico de maré média (entre 2 a 4 m) recente, formado pela erosão marítima da costa de Espinho até ao Cabo Mondego. Tem uma geometria muito complexa com uma vasta zona entre-marés, alagada e com sapais e salinas velhas, e uma imensa rede de canais estreitos.(5)(7)

É a área cujo sistema lagunar é o mais extenso em Portugal e, por outro lado, é também o mais dinâmico, em termos de processos físicos e biogeoquímicos.(7)

Este sistema lagunar encontra-se a noroeste da costa portuguesa, na seguinte localização $40^\circ 38' \text{ N}$ e $8^\circ 45' \text{ O}$, nos distritos de Aveiro (Ovar, Estarreja, Murtosa, Aveiro, Ílhavo e Vagos) e Coimbra (Mira). (4)

A Norte do sistema lagunar encontra-se o canal de S. Jacinto, a Sul o canal de Ílhavo, ao Centro o canal de Espinheiro e por último, a sudoeste observamos o canal de Mira. O canal ao Centro recebe principalmente água doce, proveniente do sistema lagunar do Rio Vouga ($50 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$), ocorrendo também a entrada de água dos rios Antuã, Boco, Caster e Ribeira dos Moinhos, tal como podemos observar na (**Figura 2**). (4)(7)

Tem uma área aproximada de 3.635 Km^2 , com uma configuração triangular. O seu cordão litoral estende-se desde o Carregal, situado no Furadouro (Ovar), sendo um dos seus vértices Fermentelã, chegando até ao Poço da Cruz, em Mira, numa extensão aproximada de 45 Km e 10 Km de largura.(4)(5)

Fortunato et. al (8) concluíram que a ação humana é o que tem afetado maioritariamente a morfologia deste sistema lagunar. Isto pode-se observar pela criação de uma passagem artificial em 1808, com consequência de formação de acesos naturais. De forma a melhorar o acesso ao porto de Aveiro fizeram-se vários trabalhos, como por exemplo a construção de dois paredões no início do século XX, aumentando estas intervenções entre 1983 e 1987. (4)

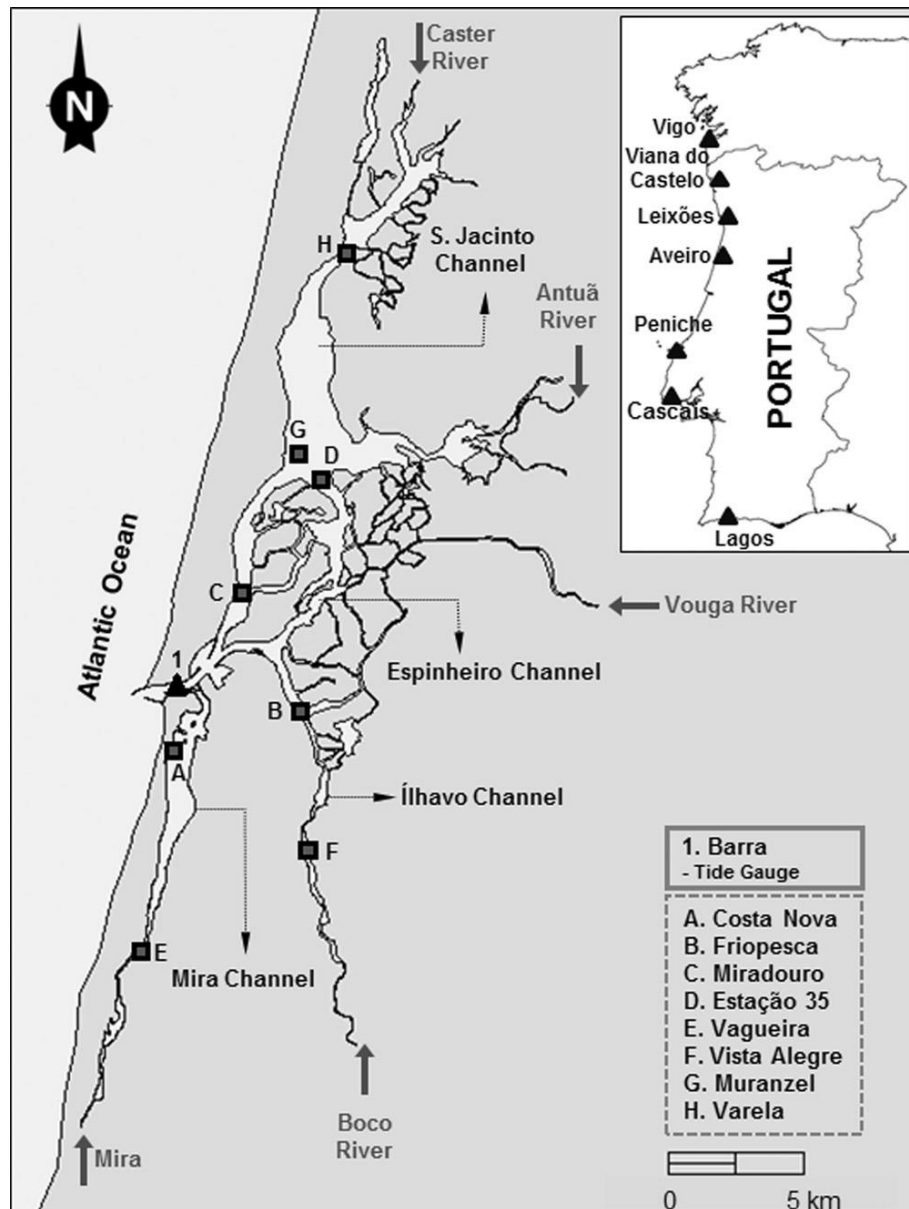


Figura 2 – Mapa da Sistema lagunar de Aveiro com a representação dos respectivos canais.(8)

2.2.Caracterização das marés

O sistema lagunar de Aveiro é caracterizado por uma maré semidiurna, sendo que varia entre os 0.6 e os 3.6, em maré morta e em maré viva, respetivamente. (9)

A maré é causada pela atração gravitacional da lua e do Sol, tendo maior influência da lua por esta se encontrar mais próxima da terra.(10)

Considerando a força centrífuga e a atração gravitacional existente entre a Terra e a Lua obtemos a força de tração responsável pela formação das marés (porque a água se pode

“deformar”) a qual é paralela à Terra, resultante entre as forças gravitacional da Lua e centrífuga da Terra (visto que esta não tem um formato totalmente esférico). (11)

Isto resulta numa maior protuberância no eixo em que a Lua se encontra do que nos restantes (**Figura 3**). (11)

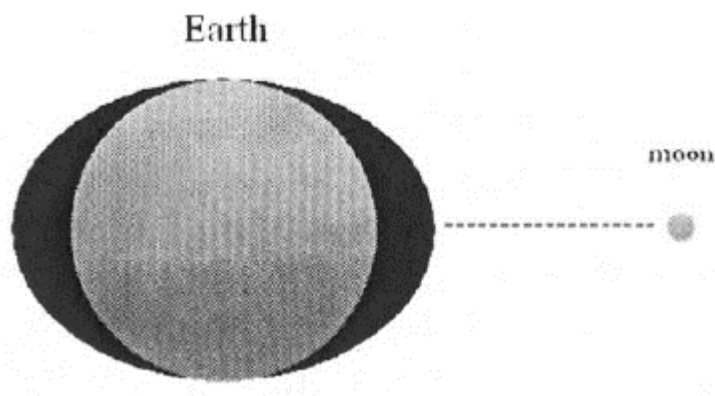


Figura 3 – Protuberâncias da Terra formadas relativamente à Lua

Sendo assim, normalmente encontramos num mesmo ponto da Terra duas marés cheias, uma quando a Lua está exatamente por cima daquele ponto (considerando o plano equatorial como referência) e outro quando esta passa do lado oposto a este. (12)

Da mesma forma, quando a Lua se encontra no plano dos meridianos encontramos em maré baixa, no plano equatorial. (12)

A Lua orbita a Terra num plano que é inclinado ao plano equatorial da Terra, o qual necessita de 27,32 dias para completar o ciclo – ciclo lunar declinado (trópico – equatorial). Daí existirem duas marés cuja amplitude é mais baixa durante o decorrer deste ciclo lunar, ou seja cuja diferença entre preia-mar e baixa-mar é mínima – maré equatorial. (13)

Por outro lado, temos também o ciclo apogeu e perigeu (27,55 dias). Quando a Lua passa por um ponto muito próximo do da Terra, onde a amplitude de maré é elevada é a maré de perigeu e outra onde a Lua passa num ponto mais distante à Terra, ocorrendo aí a maré de apogeu, onde a amplitude de maré é baixa. (14)

Isto significa que as marés altas serão de amplitude ainda mais superior, assim como as de maré baixa ainda mais inferiores. (14)

A Terra orbita o Sol de forma eclíptica, sendo que por isso quando a Lua se encontra entre o Sol e a Terra (Lua Nova) ou atrás da Terra relativamente ao Sol (Sol – Terra – Lua) (Lua Cheia) temos as marés vivas e quando se encontra em quarto crescente e minguante temos

as marés mortas. Isto ocorre, porque o Sol também exerce a sua força gravitacional sobre a Terra, sendo que por isso quando a Lua e o Sol se encontram num mesmo plano tem tendência a exercer uma maior força de tração do que quando as suas forças estão perpendiculares umas em relação à outra.(15)

As marés vivas distanciam-se de cerca de 15 dias umas das outras, porque o ciclo *Spring – Neap* (ciclo que permite que a Terra faça uma volta completa ao Sol) é de 29, 53 dias. (15)

2.3. Solos

Os solos encontram-se na interface entre a atmosfera e a litosfera e são muito importantes na medida em que são um dos fatores que controlam a produção de alimentos, sustentando assim plantas e animais. (16)(17)

Estes possuem uma vasta gama de multiplicidades, que variam consoante a geologia, clima, vegetação e outros organismos, topografia e o conjunto destes fatores com a atividade humana sobre os mesmos. (16)(17)

Sendo assim, depois de muitas organizações mundiais, a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura começou a utilizar o diagrama do triângulo textural, com algumas alterações relativamente aos primeiros existentes, para definir as classes da textura do solo relativamente às proporções de areia, argila e silte.(**Figura 4**) (16)(17)

Para além disto a quantidade de metais pesados nos solos poderá inviabilizar o consumo da planta, na medida em que esta retém os mesmos nas raízes.(18)

Sendo assim e segundo consta na Directiva 86/278/EEC a concentração máxima permitida para os metais pesados nos solos é de 50 mg/kg para o crómio, 30 mg/kg para o níquel, 50 mg/kg para o cobre, 150 mg/kg para o zinco, 1 mg/kg para o cádmio e 50 mg/kg para o chumbo. (19)

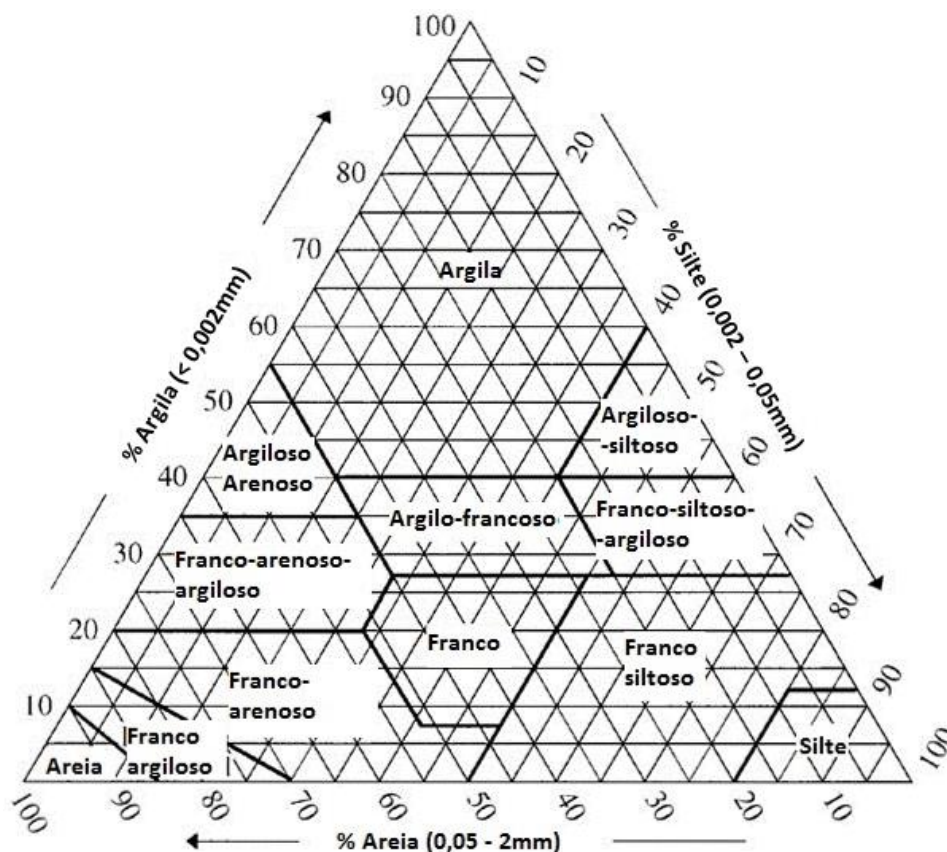


Figura 4 - Classes da textura do solo relativamente às proporções de areia, argila e silte (adaptado de (17))

Para além de já existirem estudos que apontam o caso de halófitas a crescer melhor em zonas de textura barrosa do que arenosa sendo que, para o primeiro caso, o solo tem tendência a reservar maior quantidade de água para a planta. (20)

2.4.Plantas halófitas

Halófito é um termo que provém das palavras halo (sal) e phyto (planta), que são plantas adaptadas a crescerem em condições salinas, algumas delas poderão sobreviver sem que seja necessário haver elevadas concentrações de sais. (21)(22)

“O sal existente no meio ambiente é uma dádiva da Geologia e as plantas vasculares têm respondido durante a história da evolução por produção de mecanismos de tolerância”. (23) Assim têm-se desenvolvido vários dispositivos para que as plantas halófitas, e por vezes outra vegetação, possam sobreviver e desenvolver-se, como:

- A extrusão de sais por dadas glândulas quer ao nível das raízes quer ao dos pêlos glandulosos existentes nas páginas superior e inferior das folhas;
 - A compartimentação vascular dos solutos nos tecidos, feita por absorção e posterior acumulação, sendo assim eliminados com os órgãos que os armazenavam;
 - O desenvolvimento de suculência, que resulta do aumento da diluição iónica.
- (21)(23)

Estes acontecimentos desenrolam-se porque o sal dissolvido na água inibe o crescimento da planta quer pela sua redução em captação de água, quer por o excesso de sal ser tóxico e causar uma maior redução no crescimento.

De modo a que possamos obter sucesso no crescimento dos halófitas tem-se que ter em atenção as condições de pH, a concentração de NaCl ótima para o crescimento da maioria dos halófitos (20-500mmol.L⁻¹), a adsorção de sódio pelo solo e entre outros.

Estes valores ótimos podem variar com a idade da planta e com as condições ambientais (e.g.: Humidade e intensidade da luz).

Estudos revelam que as sementes de halófitas respondem de forma similar ao *stress* salino, com o atraso do início da germinação e a ocorrência da germinação quando a salinidade do solo é reduzida. A redução da germinação e a dormência estão relacionados com a diminuição do potencial osmótico. (24)

2.4.1. Salicórnia

É uma planta cuja origem provém do latim *sal* e *cornu*, sendo o seu significado cornos salgados.

Na **Tabela 1** apresentamos a classificação taxonómica da salicórnia. (21)

Tabela 1 – Classificação taxonómica da planta halófita Salicornia (21)

Domínio	Eucarya
Reino	Plantae
Filo	Tracheophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordem	Caryophyllales
Família	Chenopodiaceae

Pelas suas características polivalentes (antioxidantes, anti-inflamatórias, hipoglicémicas e citotóxicas), a salicornia é uma planta muito usada como erva medicinal. Além disso, também é utilizada para consumo humano (pickles, saladas, comidas fermentadas, sementes como material para chá, pó de salicornia como substituto do sal e entre outros) ou como aditivo na produção de sabão e em diversas áreas da indústria alimentar.(21) (25)

Ela cresce normalmente nas zonas salinas associadas com o litoral, com o sapal médio e superior e com as margens salinas, sendo que já se desenvolve em locais, que não aqueles de onde a planta é nativa, desde que se respeitem a suas condições mínimas de crescimento. (25) (26) (27)

É uma planta higrohalófita anual (terófito), diploide, autóctone com um crescimento médio entre os 3 e os 40 cm de altura e com uma aparência articulada devido à existência de entrenós pequenos, cilíndricos ou claviformes, cada um com um revestimento suculento e fotossintético, conferindo a aparência articulada. (25)(27)(28)(29)

Apresenta uma cor geralmente verde (na maioria das espécies), tornando-se vermelha no Outono, por observações de campo, isto ocorre conforme o envelhecimento da planta (**Figura 5**). (25)



Figura 5 A) *Salicornia* de cor verde no início do seu amadurecimento; B) *Salicornia* de cor verde-avermelhada nos estágios finais do seu amadurecimento.

O crescimento dos seus indivíduos é contínuo desde maio até setembro no sapal. O facto da maré ser usada como sistema natural, o solo não se torna extremamente hipersalino. (26)

O aparecimento de flores na salicórnica é indesejável, visto que é nesta altura que, nas partes aéreas desta planta, surgem fibras que a tornam um produto de mercado pouco apetecível. (30)

As sementes atingem a maturidade a partir do final de setembro, podendo germinar *in situ* na planta “mãe” caindo, posteriormente e normalmente, no final de novembro ou dezembro, quando a planta está morta ou em deterioração. (26)

Relativamente à sua morfologia, estas contêm uma espécie de pêlos mucilaginosos, muitos deles em forma de gancho, que auxiliam a ancorar a semente ao sedimento encontrando-se, muitas vezes, afundados na água do mar. (26)

As suas raízes tendem a ser superficiais, muitas vezes penetrando menos que 10 a 20 cm no sedimento. O eixo da raiz principal produz poucos ramos nos indivíduos pequenos, mas nas plantas grandes desenvolvem-se bastantes ramificações, sendo que as raízes principais (que são originadas desde perto da base do caule) demonstram carácter lenhoso. (28)

Nos entrenós menores a capa suculenta pode atrofiar, tornando-se a base do caule assim como alguns ramos castanhos, rijos e com o cume semelhante a um nó. (28) (

Figura 6)



Figura 6 – Exemplificação do atrofiamento do caule/ramos da salicórnia.

Os ramos primários predominantes fazem um ângulo normalmente menor que 45° com o caule principal e podem ser diretos ou curvados para cima. (28)

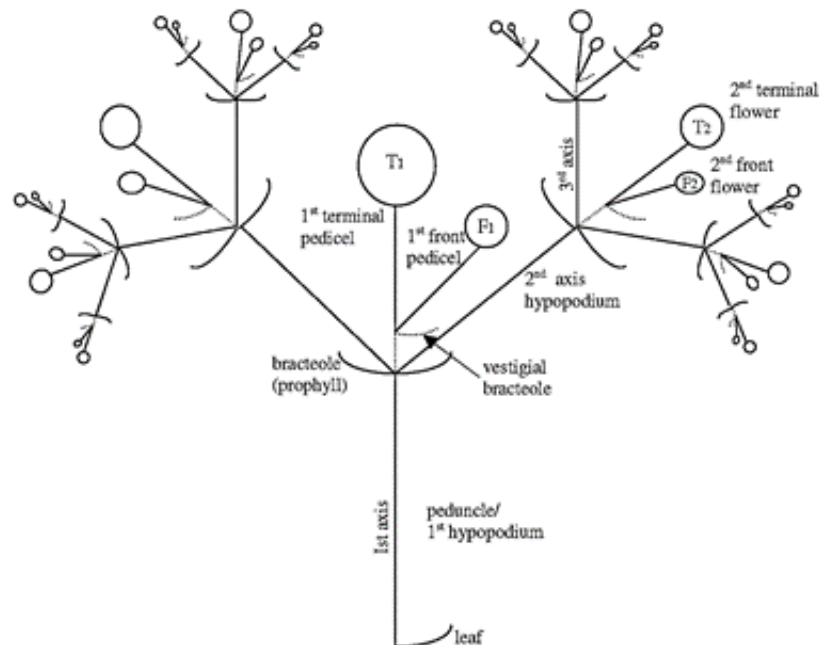


Figura 7 – Representação de uma cimeira dicasial. (31)

A sua inflorescência espiciforme com uma cimeira dicasial (**Figura 7**), pode ser distintivamente cónico e é possível que se tinja de vermelho na maturidade. (28)

Cada cimeira consiste numa flor central, manifestamente distal, normalmente com duas flores laterais com tamanhos mais pequenos ou iguais ao da flor central, profundamente embutido num tecido carnudo no final de um segmento e subentendido por um crescimento semelhante ao de um aro (**Figura 8**) (28).

Tem flores cleistogâmicas (26) sendo por isso hermafroditas suficientes que são polinizadas pelo vento. Os seus frutos pequenos e suculentos, contêm uma única semente (25), sendo que o amadurecimento de sementes nos tecidos ocorre no início de agosto. (26)

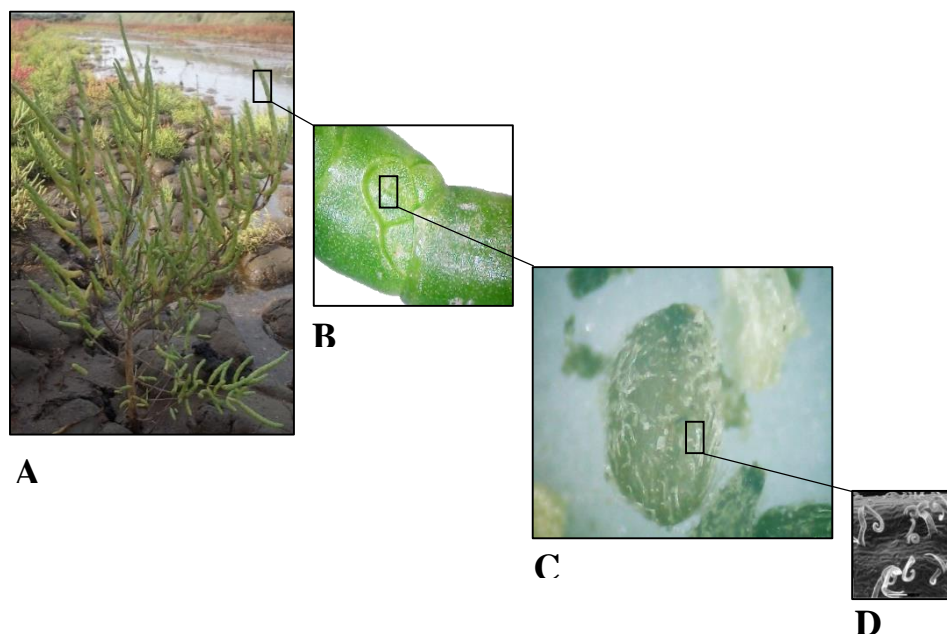


Figura 8 - A) *Salicornia ramosissima* (Fonte: Soraia Ferreira, Campo I, Ilha dos Puxadoiros®); B) Segmento fértil (Fonte: Soraia Ferreira, lupa eletrónica com máquina fotográfica acoplada, Bresser, x 20) ; C) Semente de salicórnia (Fonte: Soraia Ferreira, lupa eletrónica com máquina fotográfica acoplada, Bresser, x 80); D) Ganchos da semente de salicórnia (Adaptado de Shepherd et al.(32))

Os efeitos da seca, as condições hipersalinas, a ação das ondas e o sufocamento por tapetes de algas são as principais causas de morte da Salicórnia. (26)

A salicórnia é um dos mais importantes ecossistemas na zona sapal, visto que serve como tampão, protege as costas da erosão pela força das ondas e filtra os contaminantes da terra (fitorremediação), como os metais pesados em áreas da costa salina poluídas. (25)(33)

Em termos nutricionais esta planta apresenta bastantes ácidos gordos insaturados (ácidos α – linolénico e linoléico) e os seus tecidos contêm elevados níveis de β – caroteno, ácido ascórbico e de clorofila que tornam a planta uma boa fonte de vitaminas A e C. (25)

O género *S. europaea* L. agg engloba as espécies de *S. ramosíssima* J. Woods (**Figura 9**), 1851 (34), *S. europaea* Linnaeus. C. von, 1753 (35) e a *S. Obscura* P. W. Ball & Tutin, 1959 (36). Neste trabalho será tratado pormenorizadamente a primeira. (24)(28)

2.4.1.1. *S. ramosíssima* J. Woods (**Figura 9**)



Figura 9 – Fotografia da *Salicornia ramosissima*. (Fonte: Soraia Ferreira, Campo I, Ilha dos Puxadoiros®)

A *Salicornia ramosissima* cresce em zonas onde não hajam outros halófitas, como *Halimione portulacoides* e *Sarcocornia perennis* subsp. *perennis* (ambas Chenopodiaceae) (24) e predomina no sapal. (26)

Encontra-se ereta ou prostrada e atinge até 40 cm de altura, podendo ter de nenhuma a muitas ramificações e a sua cor passa de verde – escuro para vermelho – púrpura. (28)

É frequentemente a primeira planta superior a colonizar as zonas intertidais, e o seu crescimento é ótimo em zonas de baixas concentrações salinas, não se desenvolvendo bem em condições de salinidade elevada ou moderada. (24)(37)

Silva H. et al concluíram que a sua concentração ótima de crescimento de sal é entre os 0 e os 200 mmol.L⁻¹ (24) estando também de acordo com os resultados de outros artigos científicos para as plantas halófitas anuais.

Baixa salinidade pode aumentar a velocidade e taxa de germinação, que por sua vez, aumenta a densidade da planta. (24)

Existem autores que referem o facto de ser no final do Verão que ocorre um crescimento rápido dos indivíduos, o que está de acordo com a diminuição da concentração do azoto solúvel nos tecidos. Outros constataram que é nos meses de abril e junho que ocorre um crescimento máximo da planta, devido aos baixos valores de salinidade do solo observados nestes meses. (24)(26)

Como as sementes grandes não têm dormência (inatividade), germinam mais cedo Já as sementes pequenas são inativas sob condições de elevada salinidade, podendo precisar de luz para germinar. (24)

Plantas muito novas desta espécie são vulneráveis, sendo a sua mortalidade resultante de períodos de anoxia (imersão temporária devido à precipitação e marés altas) ou de enterro das plantas jovens por sedimentos durante as marés altas, resultante de períodos de dessecação. (24)

Silva, H. et al puderam concluir que plantas que crescem em zonas de elevada densidade, produzem um único espigão terminal Assim algumas sementes são produzidas, o que leva ao aumento da redução de um banco de sementes. Populações com as mais baixas densidades originam, portanto, gerações com a densidade populacional mais elevada. (24)

Estudos verificam que existem diferenças na composição da estrutura da parede celular das plantas halófitas relativamente às glicofitas, sendo que as primeiras sofrem alterações nas paredes secundárias. Assim está reportado que poderão existir glucorono(arabinoxilanas) presentes na parede secundária destas plantas, colaborando no endurecimento da matriz (38) assim como, arabinoxilanas que podem armazenar grandes quantidades de água. (39)

2.5.Espectroscopia de Infravermelho médio

No espectro de IV a radiação eletromagnética localiza-se entre os $10 - 13000 \text{ cm}^{-1}$, sendo este o resultado da absorção da radiação, a diferentes frequências na região do infravermelho, de uma dada amostra que se encontra na trajetória da radiação.

A absorção da radiação nesta região está relacionada com os movimentos vibracionais dos átomos na molécula. Sendo que as frequências de absorção relativas a essas vibrações dependem dos grupos funcionais presentes e da configuração dos átomos na molécula.

Esta divide-se em três regiões a próxima ($4000 - 12820 \text{ cm}^{-1}$), a média ($400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$) a qual é a zona mais utilizada em análises, visto que nesta região todas as moléculas possuem frequências de absorvância e vibrações moleculares primárias características, e a longínqua ($33 - 400 \text{ cm}^{-1}$) ver **Figura 10**.

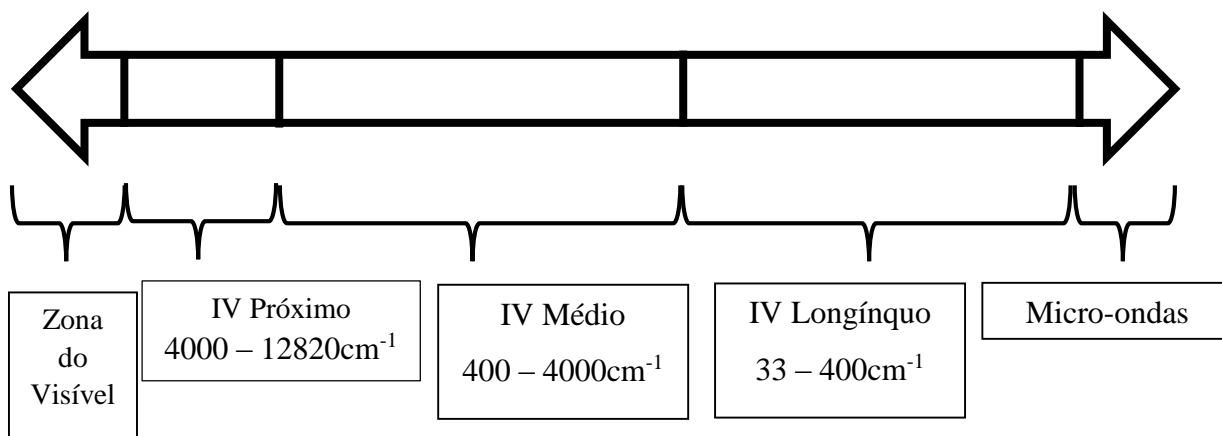


Figura 10 – Regiões de infravermelho no espectro eletromagnético. (adaptado de (40))

O espectro de IV é obtido pelo cálculo da intensidade da radiação IV antes e após atravessar a amostra, situando-se a absorvância, no espectro, no eixo dos YY e o número de onda no eixo dos XX. Para se obter a concentração da amostra, relaciona-se esta com o a absorvância, espectro este que segue a Lei de Beer – Lambert:

$$A = \epsilon \cdot l \cdot C$$

onde, A é a absorvância, ϵ é o coeficiente de absorção ($\text{L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$), C é a concentração amostra ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ou M) e l é a espessura da célula/cuvete (cm). (40)

2.6. Equipamento FTIR (do inglês Fourier Transform Infrared Spectroscopy) ou espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier.

O equipamento de *FTIR* é constituído pela bancada ótica, a qual mede a intensidade do interferograma e pelo computador, que descodifica, através da operação matemática transformada de Fourier, a informação presente em cada espectro.

A bancada ótica é composta pelo laser, a fonte, o interferómetro e o detetor. A primeira produz uma única frequência de luz vermelha que segue o mesmo trajeto da radiação infravermelha e serve para calibrar o instrumento internamente.

A fonte emite radiação infravermelha nas frequências de interesse ($400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$, neste caso).

No interferómetro temos um espelho móvel, um espelho fixo e um repartidor de feixes, os quais, no seu conjunto, dividem e combinam a radiação de modo a produzir uma interferência dependente do comprimento de onda.

Após passar o compartimento que contém a amostra, a radiação alcança o detetor, o qual produz um sinal elétrico em resposta à radiação que recebe e assim se gera o interferograma, que contém a informação das frequências e intensidades desse dado espectro. (41)

2.7. Espectroscopia de massa com plasma induzido acoplado (do inglês, inductively coupled plasma mass spectroscopy – ICP – MS) e espectroscopia de emissão atômica com plasma induzido acoplado (do inglês, Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry ICP – OES)

A espectroscopia com plasma induzido acoplado mede a energia que é perdida quando um elétron passa de um nível superior para um mais baixo de energia. Assim, o plasma excita estes elétrons que depois retomam ao seu estado fundamental. Este método é muito utilizado para medir quantidades de metais em quantidades grandes (%) ou pequenas ($\mu\text{g.L}^{-1}$).

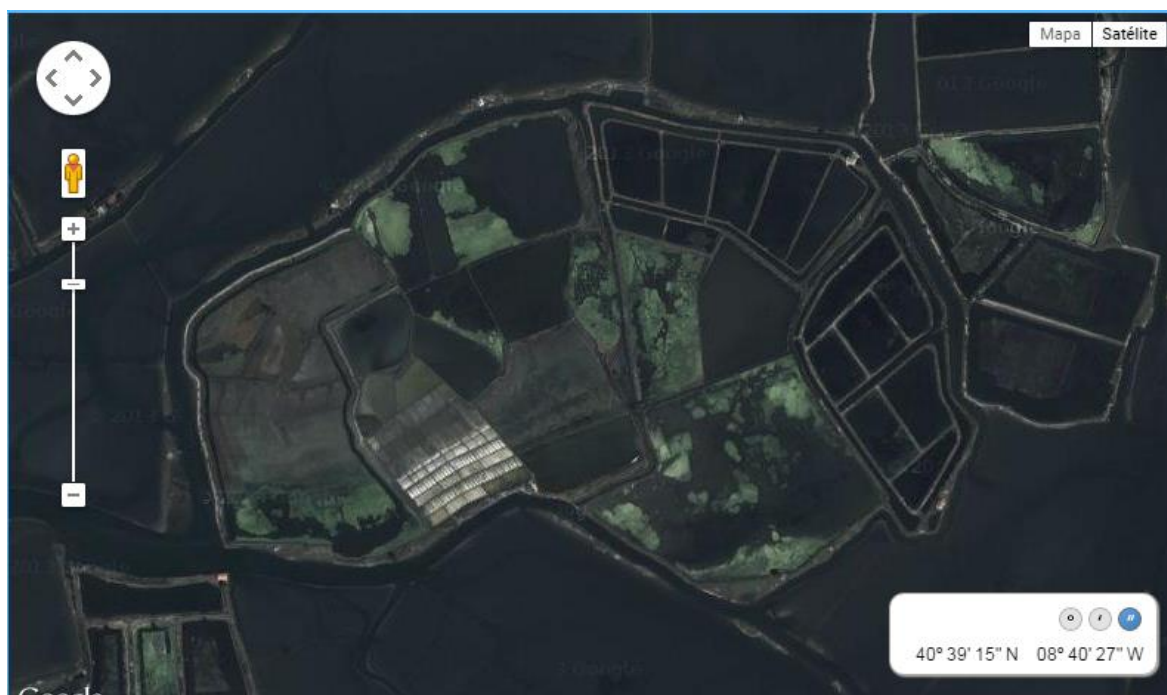
A espectroscopia de massa com plasma induzido acoplado é um tipo de análise que visa a análise de quantidades vestigiais de metais, sendo que o seu baixo limite de deteção e a sua capacidade de medir vários elementos ao mesmo tempo são algumas das vantagens deste método.

A espectroscopia de emissão atômica com plasma induzido acoplado mede também, tal como o anterior, metais. (42)

III. Estágio

Segundo Henrique Pinto Dias, sócio – gerente da empresa Ilha dos Puxadoiros®, esta deu início à sua atividade a 21 de Setembro de 2007, inicialmente com a produção e venda de sal e flor de sal e mais tarde, em 2013, começou a comercializar salicórnia. A 8 de Janeiro de 2014 introduziu as ostras nos seus planos de vendas e em Outubro do mesmo ano iniciou-se a sementeira da salicórnia no mesmo local.

Localiza-se a sua sede, no centro da cidade, sendo que o local de trabalho do sal, flor de sal e crescimento/desenvolvimento da salicórnia e de aquicultura localiza-se a $40^{\circ} 39' 15''$ N e a $8^{\circ} 40' 27''$ O (ver **Figura 11**), no sistema lagunar de Aveiro, pertencendo ao grupo do



Norte.

Figura 11- Imagem de satélite da Ilha dos Puxadoiros®, com as respetivas coordenadas. (43)

O estágio consistiu em acompanhar as atividades produtivas da Ilha dos Puxadoiros®, com especial ênfase na produção de salicórnia. É de referir que o sistema de rega dos campos de salicórnia é natural. A rega é efetuada nas marés vivas. Assim efetuou-se a recolha de semente, preparação do campo e sementeira, recolha de salicórnia para comercialização e análise, recolha de solo para análise granulométrica e de metais pesados no LCA (Laboratório Central de Análises da Universidade de Aveiro) e ajuda na triagem de ostras para comercialização.

Na Universidade de Aveiro foi realizada a análise granulométrica ao solo, a análise das amostras de partes aéreas e raízes de salicórnia por espectroscopia de IV médio e determinação de açúcares por cromatografia de gás. No LCA foram determinados os metais pesados existentes nas plantas e nos solos.

IV. Material e métodos

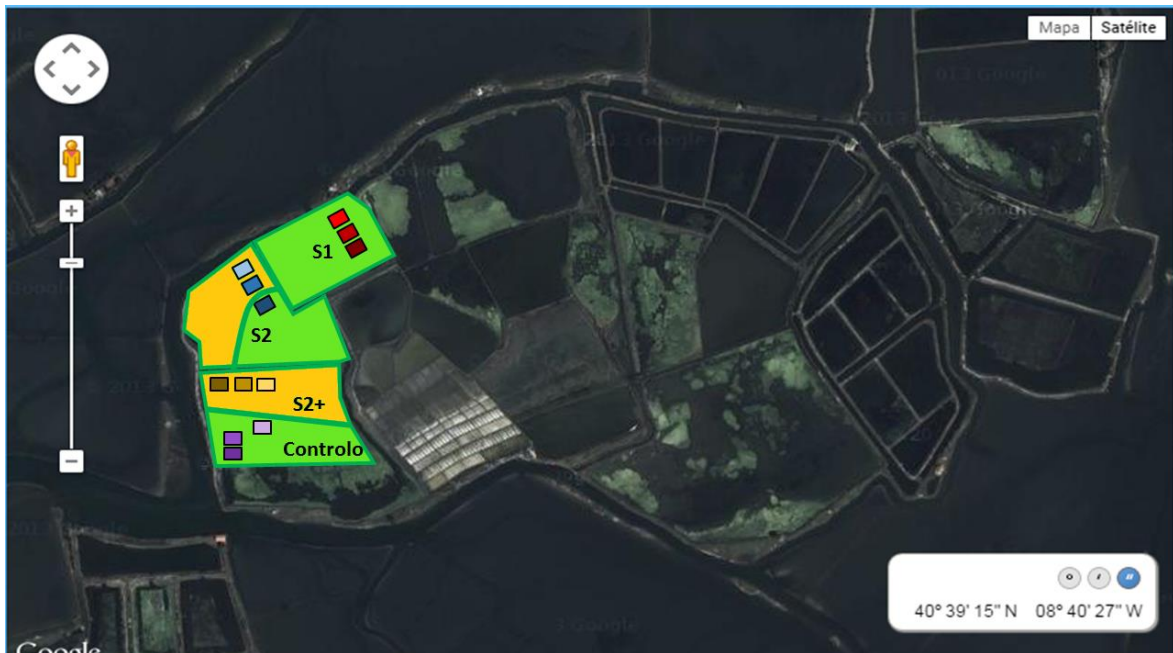


Figura 12- Imagem satélite dos campos de salicórnia na Ilha dos Puxadoiros®, identificação dos campos:

S1-1; S1-2; S1-3; S2-1; S2-2; S2-3; S2+-1; S2+-2; S2+-3; C1; C2; C3.

As plantas foram semeadas em outubro de 2014, dezembro de 2014 e janeiro de 2015, ou seja tinham 5 meses, 3 meses e 2 meses, respetivamente, de acordo com o esquema indicado na **Figura 12**, o que corresponde a S1, S2 e S2+.

As plantas Controlo já se encontravam no campo na altura da sementeira, estimando-se assim que tivessem entre 8 a 9 meses.

De forma a ter uma análise estatística correta, foram marcados 3 quadrados de 1 m² cada, em cada um dos 4 campos. Em cada um dos doze quadrados e para contagem do número de plantas foram colocados quadrados menores de 0,1 m². Para medir o crescimento das plantas foram colocadas aleatoriamente 15 estacas (**Figura 13**).

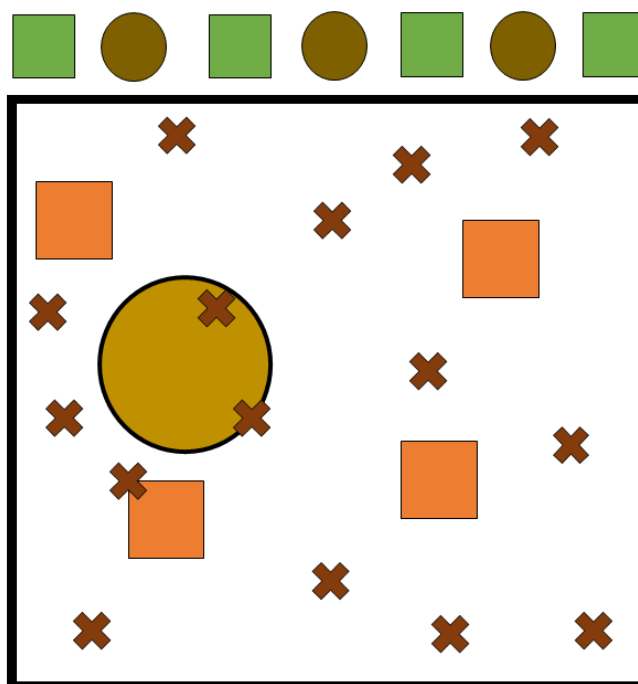


Figura 13 – Representação da forma como foram recolhidas as amostras em cada um dos quadrados. ■ Quadrados de 0,1 m² para contagem do número de plantas; ■ Pontos de recolha das plantas de salicórnia; ● Ponto de recolha da amostra de solo para análise granulométrica; ● Ponto de recolha de solos para análise de metais pesados; ✕ Estacas para medir a altura das plantas.

De forma a não afetar o número de plantas que iriam ser contabilizadas durante o trabalho para amostragem foram retirados de fora dos quadrados maiores, assim como para a análise de metais pesados. A análise granulométrica foi realizada no fim e a amostra foi retirada de dentro do quadrado.

4.1. Análise da altura e número de plantas

Todas as semanas com auxílio de uma régua, procedeu-se à leitura da altura das mesmas plantas marcadas com estacas, assim como à contagem do seu número dentro dos quadrados menores.

4.2. Preparação das amostras

4.2.1. Recolha da amostra vegetal fresca

A *Salicornia ramosissima* foi colhida a 4 de março de 2015 no Sistema Lagunar Sapal Superior e Inferior da Ilha dos Puxadoiros®. As plantas tinham sido semeadas em outubro de 2014, dezembro de 2014 e janeiro de 2015, ou seja tinham 5 meses, 3 meses e 2 meses, respetivamente. Estima-se que as plantas controlo tinham entre 8 a 9 meses. As plantas foram retiradas à margem dos 12 quadrados como apresentado na **Figura 13**.

Estima-se que as plantas controlo tivessem 8 a 9 semanas.

As plantas foram retiradas cuidadosamente do solo, lavadas com água corrente e secas sobre papel absorvente. As raízes e as pontas (a parte que é comercializável por não estar lenhificada) foram cortadas e colocadas em porta-amostras. As amostras foram congeladas nos mesmos recipientes e antes de liofilizar taparam-se com para-filme e efetuaram-se pequenos orifícios neste. De seguida procedeu-se à sua liofilização. As amostras liofilizadas foram guardadas num exsiccador até o seu uso posterior.

À *posteriori*, as amostras de Salicórnica foram analisadas:

- Proteína total da salicórnica – como azoto total por Análise Elementar
- Açúcares – por hidrólise e derivatização e cromatografia de gás (GC)
- Metais pesados – pelo método de ICP
- Espectroscopia de infravermelho medio de transformada de Fourier (FT-MIR).

Análise de açúcares neutros(44)(45)

Hidrólise:

- Pesou-se as quatro amostras, tendo cada uma delas entre 2 a 3 mg, para um tubo de cultura;
- Adicionou-se 200 µL de H₂SO₄ 72% (41 mL de H₂SO₄ 96% + 25 mL de água) (ou 58% v/v) e incubou-se à temperatura ambiente durante 3h (agitar 2 a 3 vezes);
- Adicionou-se 2,2 mL de água destilada (concentração final de H₂SO₄ 1M) e hidrolisou-se a 100 °C num bloco de aquecimento durante 2,5 h (após 1h,

colocou-se os tubos num banho de água e retirou-se 0,5 mL de hidrolisado para análise de ácidos urónicos, continuou-se a hidrólise por 1,5 h);

- Arrefeceu-se os tubos num banho de gelo;

Redução e acetilação:

- Adicionou-se 200 μ L de padrão interno (2-desoxiglucose 1 mg/mL) a cada tubo;
- Transferiu-se 1,0 mL de amostra para novos tubos de cultura e neutralizou-se com 200 μ L de NH_3 a 25% (o frasco deve estar sempre com mais de metade do volume preenchido);
- Reduziu-se com 100 μ L de NaBH_4 (15 % (m/v) em NH_3 3M) e colocou-se num bloco de aquecimento a 30 °C durante 1h (a solução de NaBH_4 tem que se preparar imediatamente antes da adição – 150 mg NaBH_4 por 1 mL NH_3 3M);
- Arrefeceu-se os tubos num banho de gelo e adicionar 2 x 50 μ L de ácido acético glacial (para eliminar o excesso de BH_4^-);
- Transferiu-se 300 μ L para tubos SOVIREL (as tampas de teflon evitam contaminação das amostras);
- Colocou-se os tubos num banho de gelo e adicionou-se 450 μ L de 1 – metilimidazol e 3 mL de anidrido acético. Agitou-se bem e incubou-se num bloco de aquecimento a 30 °C durante 30 min;
- Num banho de gelo, adicionou-se 3,0 mL de água destilada (para decompor o excesso de anidrido acético) e 2,5 de diclorometano. Agitou-se muito bem para extrair os acetatos de alditol (não usar vortex);
- Centrifugou-se cerca de 30 s a 3000 rpm (para a separação das duas fases);
- Aspirou-se a fase aquosa por sucção (pode ser com vácuo de água e uma pipeta de Pasteur);
- Adicionou-se 3 mL de água destilada a 2,5 mL de diclorometano. Agitar, centrifugou-se e removeu-se totalmente a fase aquosa como descrito anteriormente;
- Lavou-se bem a fase orgânica com 3 mL de água destilada, agitou-se, centrifugou-se e removeu-se totalmente a fase aquosa. Repetiu-se a lavagem

com mais 3 mL de água destilada. Agitou-se, centrifugou-se e removeu-se totalmente a fase aquosa como descrito anteriormente. Certificou-se que não ficava água nas paredes dos tubos;

- Transferiu-se a fase orgânica para tubos próprios para a *speedvac* e evaporou-se o diclorometano;
- Adicionou-se 1 mL de acetona anidra e evaporou-se como descrito anteriormente;
- Repetiu-se este passo, adicionou-se mais 1 mL de acetona anidra e evaporou-se;
- Fechou-se os tubos e guardou-se num exsiccador;

Análise por GC-FID:

- Dissolveu-se os acetatos de alditol em 50 µL de acetona anidra e analisou-se por GC-FID usando-se uma coluna capilar DB-225 (30 m comprimento, 0.25 mm diâmetro, 0.15 µm espessura). Cromatógrafo Perkin Elmer – Clarus 400 (CR1)

Análise de ácidos urónicos(44)(45)

Hidrólise:

- Pesou-se as quatro amostras, tendo cada uma delas entre 2 a 3 mg, para um tubo de cultura;
- Adicionou-se 200 µL de H₂SO₄ 72% (41 mL de H₂SO₄ 96% + 25 mL de água) (ou 58% v/v) e incubou-se à temperatura ambiente durante 3h (agitar 2 a 3 vezes);
- Adicionou-se 2,2 mL de água destilada (concentração final de H₂SO₄ 1M) e hidrolisou-se a 100 °C num bloco de aquecimento durante 1h, colocou-se os tubos num banho de água e retirou-se 0,5 mL de hidrolisado;
- Arrefeceu-se os tubos num banho de gelo;
- Diluiu-se 0,5 mL com 3 mL de água destilada (dependendo da concentração da amostra);

Preparação dos padrões para a curva de calibração:

- Preparou-se uma solução padrão de ácido galacturónico (200 µg/mL);

- Preparou-se 3 tubos (1 branco e 2 réplicas) com cada um dos seguintes padrões (15 tubos):
 - Padrão 0: 500 μL água destilada
 - Padrão 20: 50 μL padrão ácido galacturónico e 450 μL água destilada
 - Padrão 40: 100 μL padrão ácido galacturónico e 400 μL água destilada
 - Padrão 60: 150 μL padrão ácido galacturónico e 350 μL água destilada
 - Padrão 80: 200 μL padrão ácido galacturónico e 300 μL água destilada

Determinação:

- Preparou-se 3 tubos para cada amostra (1 branco e 2 réplicas) com 0,5 mL de amostra;
- Colocou-se os tubos (os 3 tubos de cada amostra e os 15 tubos dos padrões) num banho de gelo e adicionou-se a cada um 3 mL de borato de sódio 50 mM preparado em ácido sulfúrico concentrado. Agitou-se muito bem (com cuidado) e tapou-se o topo dos tubos com folha de alumínio;
- Colocou-se num banho a 100 °C durante 10 min;
- Arrefeceu-se os tubos num banho de gelo;
- Adicionou-se, no escuro, 100 μL de MFF (m – fenilfenol 0,15 % (m/v) em 0,5 % (m/v) NaOH) a 2 dos 3 tubos de cada amostra e padrão (réplicas);
- Agitou-se manualmente e colocou-se dentro de um armário para deixar reagir durante 30 min;
- Agitou-se manualmente os tubos para homogeneizar a solução e leu-se a absorvância de cada tubo a 520 nm (sendo o branco o ar).

4.2.2. Solos

Foram feitas medições de metais pesados nos solos de modo a perceber se existia a possibilidade de passar para a salicórnia e inviabilizar o seu uso como produto alimentar. Para estas medições foi recolhido solo, a 8 de Abril de 2015. Esta análise foi feita por ICP (espectroscopia de plasma indutivamente acoplada) no Laboratório Central de Análises da Universidade de Aveiro.

A 10 de Setembro de 2015 extraiu-se solo para determinação da granulometria, visto que a salicórnia crescia mais abundantemente numas zonas do que noutras, isto para um mesmo campo e para o qual a sementeira foi feita na mesma altura e sob as mesmas condições.

4.2.2.1. Análise de metais pesados

Como tal, foram analisados 10 metais pesados para as respetivas zonas (Zona controlo em duplicado e Zonas S1, S2 e S2+).

4.2.2.2. Análise da granulometria

Para análise da granulometria utilizou-se a seguinte metodologia (adaptado de(46):

Visto que a quantidade e a natureza dos sais poderiam prejudicar a ação do dispersante (pirofosfato tetrassódico), efetuou-se um pré-tratamento da amostra:

- Colocou-se 50g de solo e álcool etílico 60% num kitasato e por ação de um sistema de vácuo efetuou-se a lavagem, tendo-se gasto cerca de 2 L de C_2H_5OH para a lavagem do mesmo;
- Procedeu-se antes da lavagem à homogeneização da amostra, de forma a todos os sais serem eliminados mais facilmente;
- Efetuou-se esta lavagem até uma porção do filtrado não apresentar reação com o nitrato de prata;
- Deixou-se secar a amostra ao ar, em papel de filtro;
- Homogeneizou-se a amostra e pesou-se a quantidade necessária para a análise granulométrica.
- Colocou-se 20g de solo (previamente tratado) num copo de plástico de 250 mL;
- Adicionou-se 100 mL de água e 10 mL de pirofosfato tetrassódico, tamponado com carbonato de sódio;
- Agitou-se com bastão de vidro e deixou-se repousar durante uma noite, cobrindo-se o copo com vidro do relógio;
- Transferiu-se o conteúdo para um copo com auxílio de um jato de água, onde se colocou um agitador elétrico. Deixou-se o volume perto dos 300 mL;
- Procedeu-se à agitação durante 15 minutos;

Material e Métodos

- Passou-se o conteúdo através da peneira de malha 0,053 mm (n.º 270), colocada sobre um funil, tendo abaixo uma proveta de 1 L;
- Lavou-se o material retido na peneira com água;
- Completou-se o volume da proveta com o auxílio de um esguicho;
- Agitou-se a suspensão durante 20 segundos com um bastão, marcou-se o tempo após concluir a agitação;
- Preparou-se a prova em branco, colocando-se o dispersante utilizado em proveta de 1 L com água, completou-se o volume, agitou-se por 20 segundos e marcou-se o tempo;
- Mediu-se a temperatura da prova de branco e da amostra e conforme essa mesma temperatura esperou-se o tempo necessário para a sedimentação para a fração argila a 5 cm de profundidade;
- Introduziu-se uma pipeta de 50 mL colocada num pipetador automático de borracha, até à profundidade de 5 cm e recolheu-se a suspensão.
- Transferiu-se para um cadinho de porcelana, juntamente com o líquido resultante da lavagem desta pipeta e repetiu-se esta operação para a prova em branco.
- Colocou-se o cadinho numa estufa a 106 ° C e deixou-se evaporar durante uma noite até evaporar completamente a suspensão. Pesou-se com aproximação de 0,0001g.
- Transferiu-se a fração de areia para uma lata de alumínio, eliminou-se o excesso de água e colocou-se na estufa. Pesou-se com aproximação de 0,05g, obtendo-se assim o peso de areia grossa + areia fina. Transferiu-se essa fração para uma peneira de 0,2 mm (n.º 70);

–

Cálculo dos valores das frações:

$$\text{Teor em argila} = [(m_{\text{arg}} + m_{\text{d}}) - m_{\text{d}}] \times 1000$$

$$\text{Teor de areia fina} = m_{\text{af}} \times 50$$

$$\text{Teor de areia grossa} = (m_{\text{at}} - m_{\text{af}}) \times 50$$

$$\text{Teor de silte (g. Kg}^{-1}\text{)} = 1000 - (T_{\text{arg}} + T_{\text{af}} + T_{\text{ag}})$$

m_{arg} – massa de argila (g)

m_{d} – massa de dispersante (g)

m_{af} – massa de areia fina (g)

m_{at} – massa de areia grossa (g)

T_{arg} – teor de argila (g. Kg⁻¹)

T_{af} – teor de areia fina (g. Kg⁻¹)

T_{ag} – teor de areia grossa (g. Kg⁻¹)

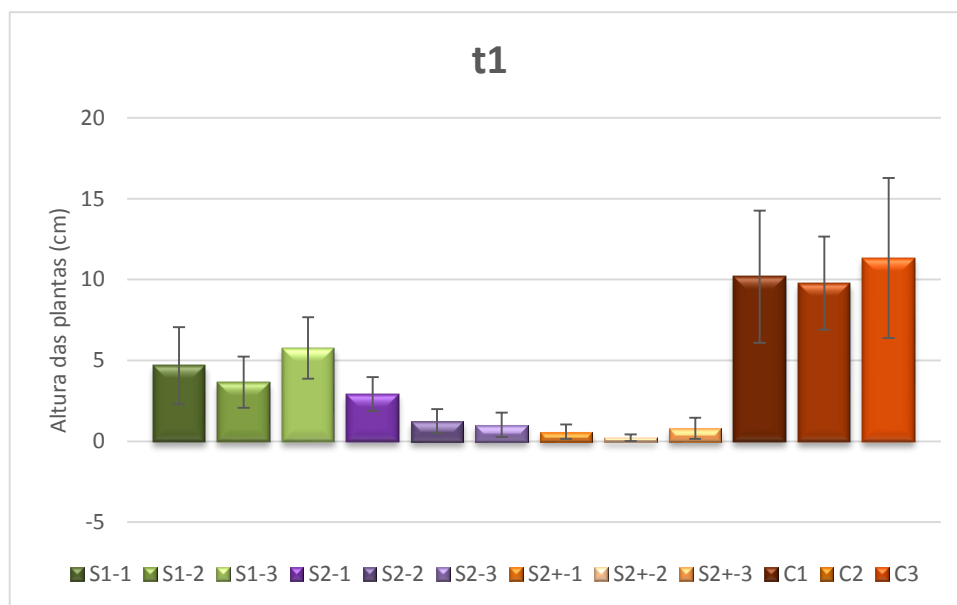
V. Discussão e Resultados

5.1. Análise estatística dos valores das alturas das plantas

Para determinar e comparar os crescimentos médios da salicórnia e desta forma ser possível inferir a melhor época para efetuar a sementeira desta halófita, procedeu-se à sementeira em diferentes alturas (23 de outubro de 2014, 22 de dezembro de 2014 e 5 de janeiro de 2015), para diferentes campos (S1, S2, S2+ e Controlo) e durante 16 semanas. Para tal, efetuaram-se medições do seu crescimento a cada quinta-feira de cada mês.

Os resultados são apresentados a seguir.

a)



b)

Tukey HSD^b

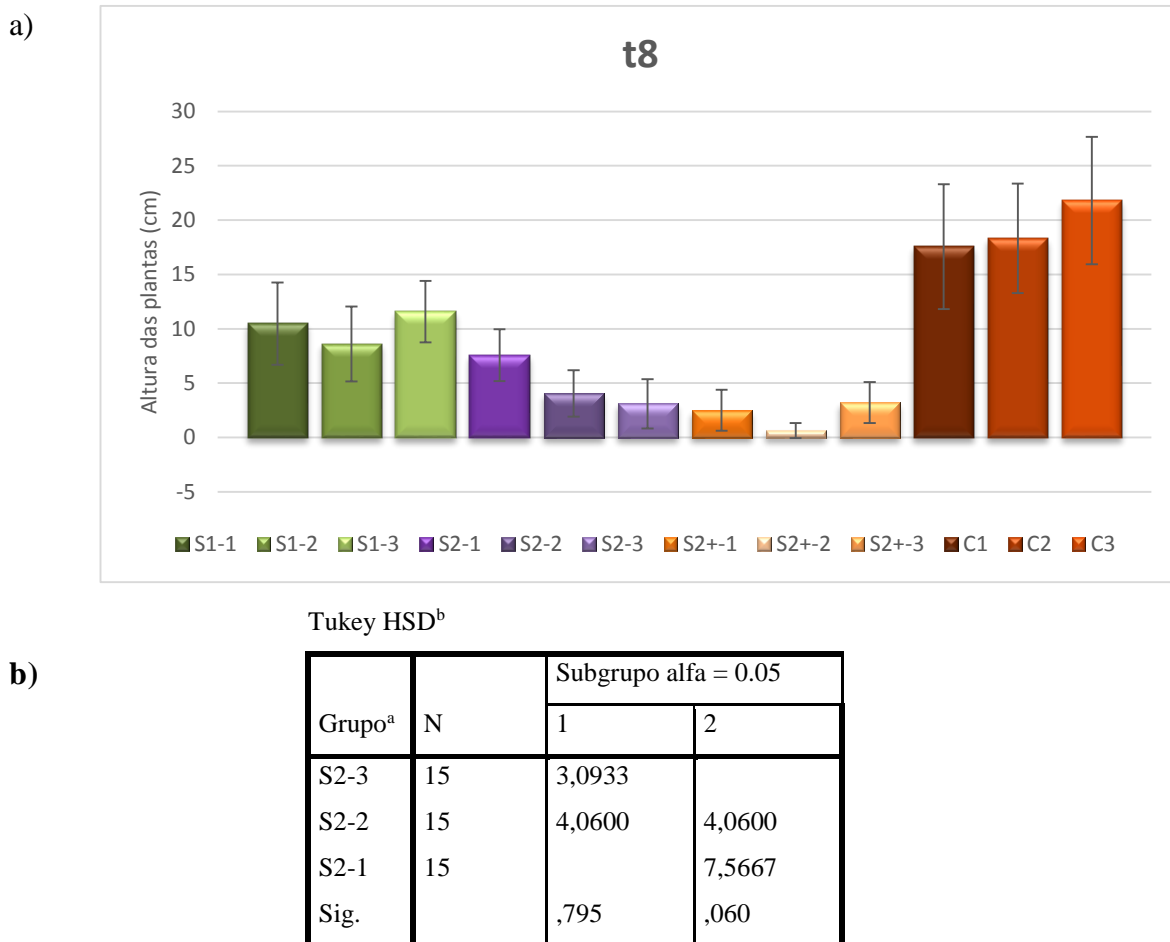
Grupo ^a	N	Subgrupo alfa = 0.05	
		1	2
S2-3	15	1,0133	2,9133
S2-2	15	1,2467	
S2-1	15		
Sig.		0,911	1,000

Média para os grupos em subgrupos homogêneos são os demonstrados.

a. Campo = S2, b. Usa uma amostra média de tamanho harmónico = 15,000

Figura 14 – Crescimento médio das plantas nos diferentes Grupos de plantas medido no tempo t1. a) Gráfico de t1 – Campos S1 (verde), S2 (roxo), S2+ (laranja) e Campos Controlo, C (castanho); b) Análise das diferenças existentes entre os grupos do Campo S2 pelo método de Tukey HSD para o tempo 1.

Da **Figura 14 a)** é possível inferir que para o tempo 1 não existem diferenças estatisticamente significativas entre os grupos do mesmo campo, exceto no campo S2 (S1-1, S1-2 e S1-3), onde em S1-1 se verificam diferenças estatisticamente significativas relativamente aos outros dois grupos, como se pode constatar na **Figura 14 b)**.



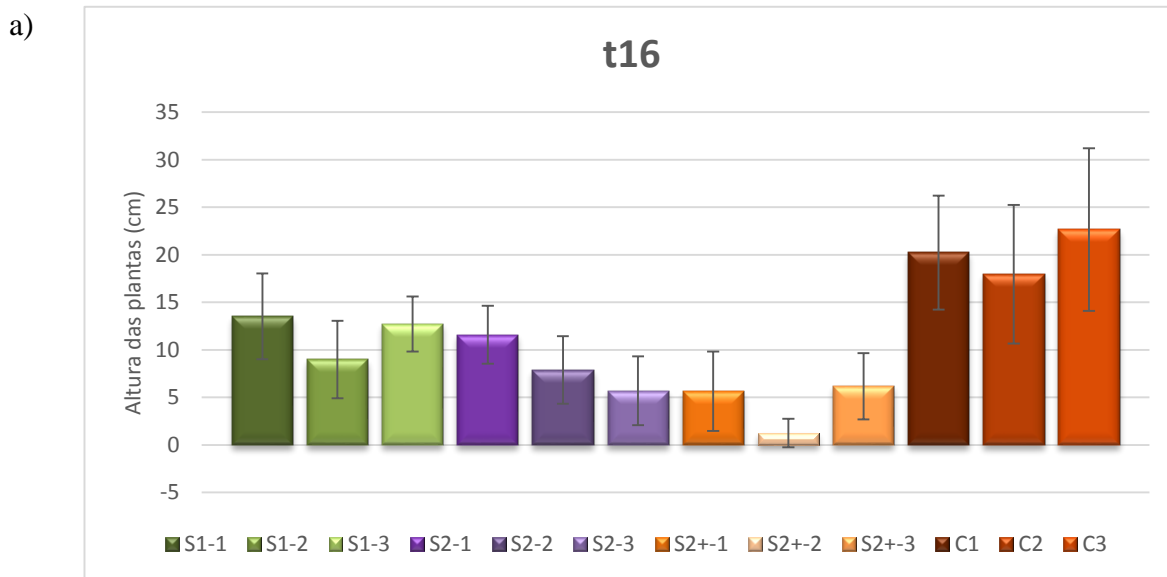
Média para os grupos em subgrupos homogêneos são os demonstrados.

a. Campo = S2, b. Usa uma amostra média de tamanho harmónico = 15,000

Figura 15 - Crescimento médio das plantas nos diferentes Grupos de plantas medido no tempo t8. a) Gráfico de t8 – Campos S1 (verde), S2 (roxo), S2+ (laranja) e Campos Controlo, C (castanho); b) Análise das diferenças existentes entre os S2-1, S2-2 e S2-3 pelo método de Tukey HSD para t8.

Para o tempo a 4 de junho de 2015 podemos inferir que no campo S1, S2+ e Controlo não há diferenças estatisticamente significativas entre os grupos e no campo S2 há diferenças estatisticamente significativas entre S2-1 e S2-3, como podemos constatar pela **Figura 15 a) e b).**

Para o tempo após 16 semanas do começo da medição (30 de julho de 2015) podemos inferir que nos campos S1, S2+ e Controlo não há diferenças estatisticamente significativas, enquanto no campo S2 continuam a existir diferenças estatisticamente significativas entre S1-1 e S1-3, tal como se pode observar na **Figura 16 a) e b).**



Tukey HSD^b

b)

Grupo ^a	N	Subgrupo alfa = 0.05	
		1	2
S2-3	15	5,6933	
S2-2	15	7,8867	7,8867
S2-1	15		11,5867
Sig.		,598	,240

Média para os grupos em subgrupos homogêneos são os demonstrados.

a. Campo = S2, b. Usa uma amostra média de tamanho harmónico = 15,000

Figura 16 - Crescimento médio das plantas nos diferentes Grupos de plantas medido no tempo t16. a) Gráfico de t16 - Campos S1 (verde), S2 (roxo), S2+ (laranja) e Campos Controlo, C (castanho); b) Análise das diferenças existentes entre os S2-1, S2-2 e S2-3 pelo método de Tukey HSD para t16.

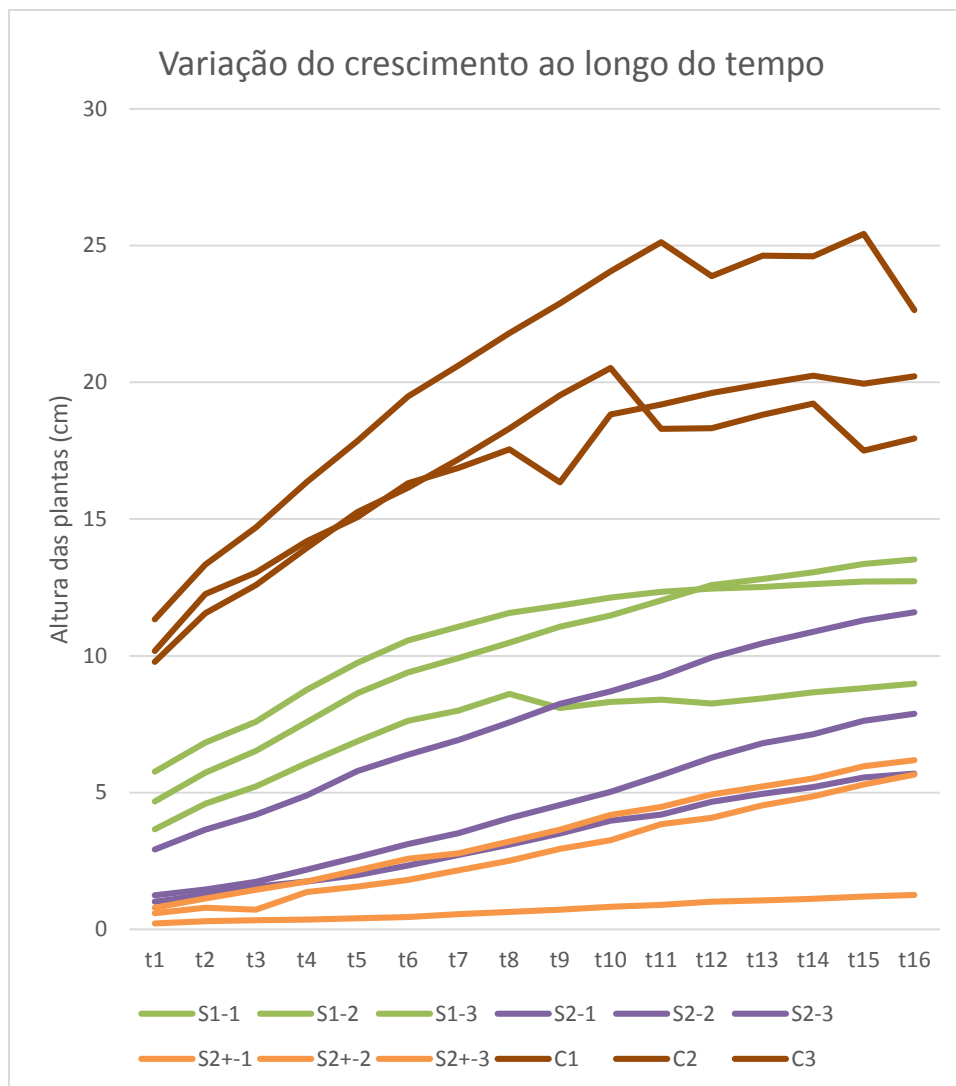


Figura 17 – Variação do crescimento das plantas ao longo do tempo - Campos S1 (verde), S2 (roxo), S2+ (laranja) e Campos Controlo, C (castanho)

Como podemos observar pela **Figura 17** e como já era de esperar as plantas cuja sementeira foi feita mais cedo tem um crescimento mais acentuado, que as plantas mais recentes.

5.2.Comparação das alturas das plantas com 6 meses

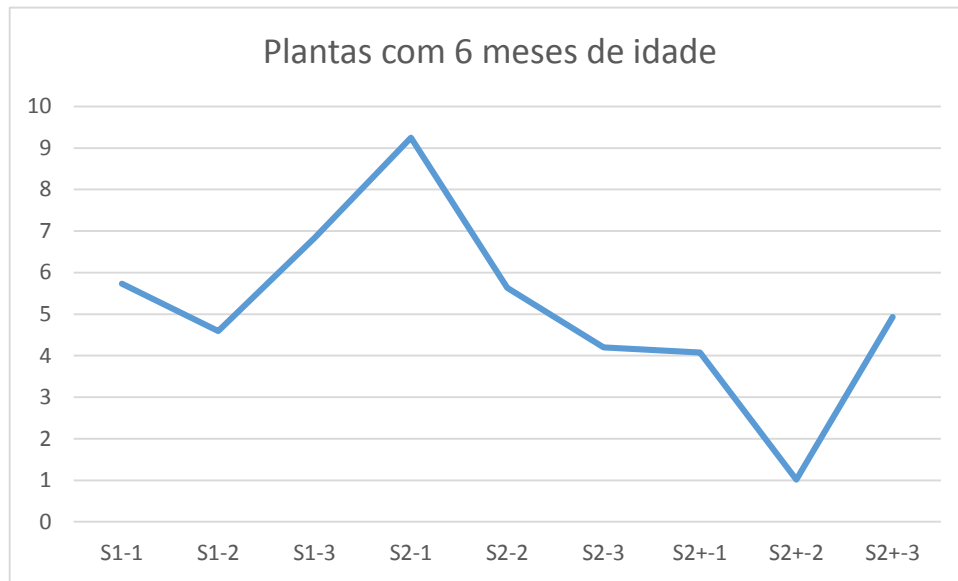
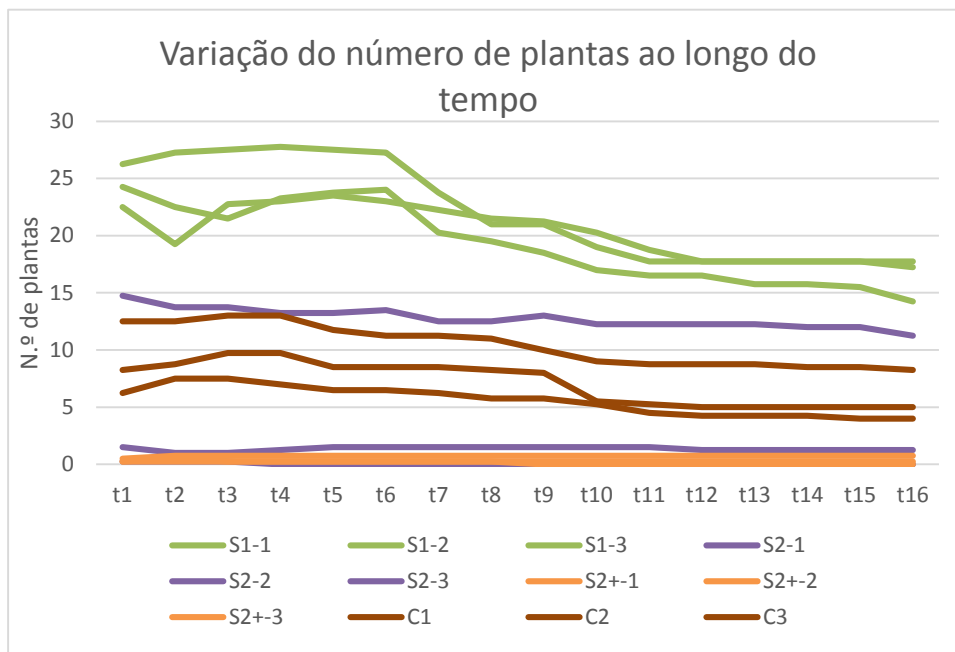


Figura 18 – Altura média das plantas com 6 meses de idade.

A altura média das plantas aos 6 meses de idade e como podemos constatar na **Figura 18** situa-se entre os 4 e os 6 cm com duas exceções. No caso das plantas S1, estas completaram 6 meses em abril, tendo crescido a maioria do tempo a baixas temperaturas. As plantas do campo S2 tinham 6 meses em junho, sendo de esperar que tivessem tido um maior crescimento do que as do campo S1. Contudo isto só se verifica para o grupo S2-1, enquanto as do S2-3 tiveram um crescimento ainda menor. O mesmo raciocínio se pode aplicar para as plantas do campo S2+ as quais em julho completaram os 6 meses. Contudo também neste caso houve problemas de crescimento e só as plantas do grupo S2+-3 tem uma altura comparável às do campo S1.

5.3. Número de plantas

a)



Tukey HSD^b

b)

Grupo ^a	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
S2 - 3	4	,2500	
S2 - 2	4	1,5000	
S2 - 1	4		14,7500
Sig.		,952	1,000

Média para os grupos em subgrupos homogêneos são os demonstrados.

a. Campo = S2, b. Usa uma amostra média de tamanho harmónico = 15,000

Figura 19 – Variação do número de plantas ao longo do tempo; a) Gráfico da variação do número de plantas - Campos S1 (verde), S2 (roxo), S2+ (laranja) e Campos Controlo, C (castanho); b) Análise das diferenças existentes entre os grupos do Campo S2 pelo método de Tukey HSD para o tempo 1.

Relativamente aos valores para o número de plantas verificou-se uma descida deste número o longo do tempo (**Figura 19 a**)), sendo que por comparação entre grupos do mesmo campo, o número foi significativamente diferente apenas no Campo S2 entre os grupos S2-3 e S2-1 e o S2-2 e S2-1, como podemos ver **Figura 19 b**). Isto aconteceu para todos os

tempos de medição. Assim, podemos inferir que no Campo S2 existem diferenças estatisticamente significativas e como tal, fomos tentar perceber de onde poderiam vir essas diferenças, através da análise granulométrica dos solos onde nasce essa mesma planta.

5.4. Análise granulométrica dos solos

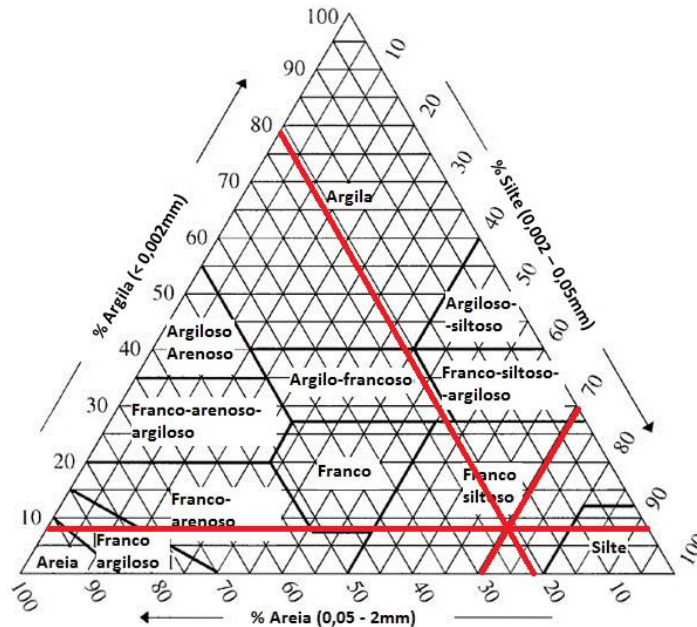


Figura 20 – Textura do solo para o solo Controlo.

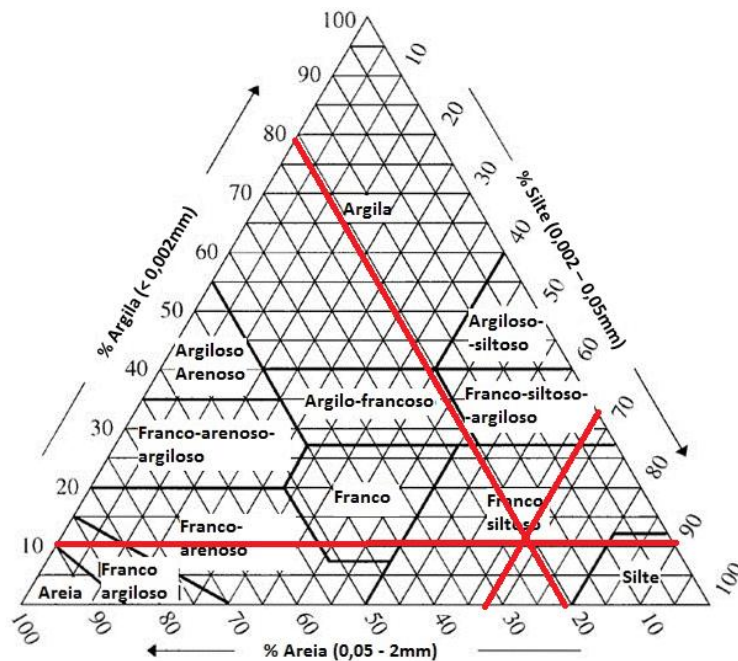


Figura 21 – Textura do solo para o solo S1.

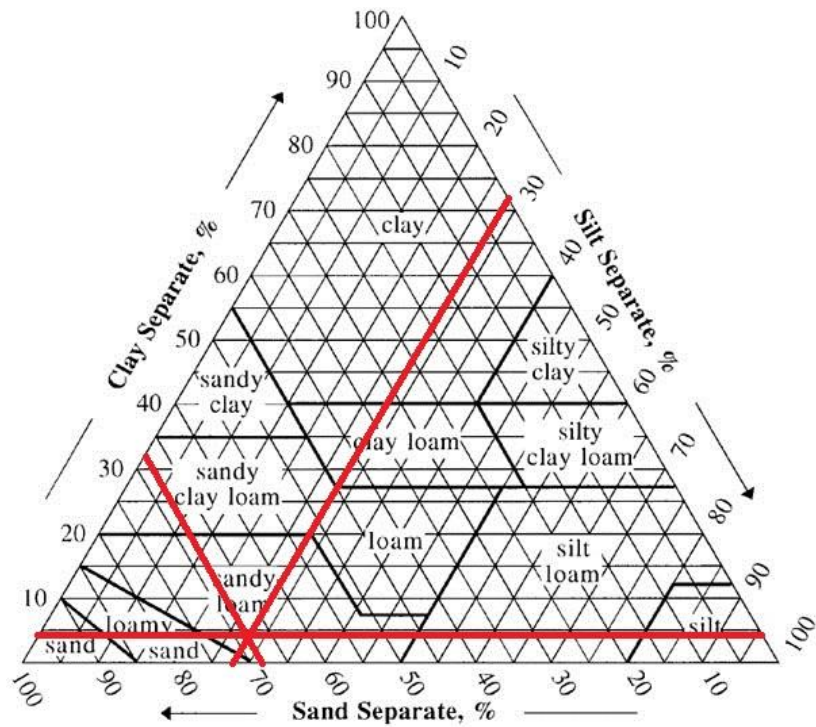


Figura 22 – Textura do solo para o solo S2 sem salicórnica.

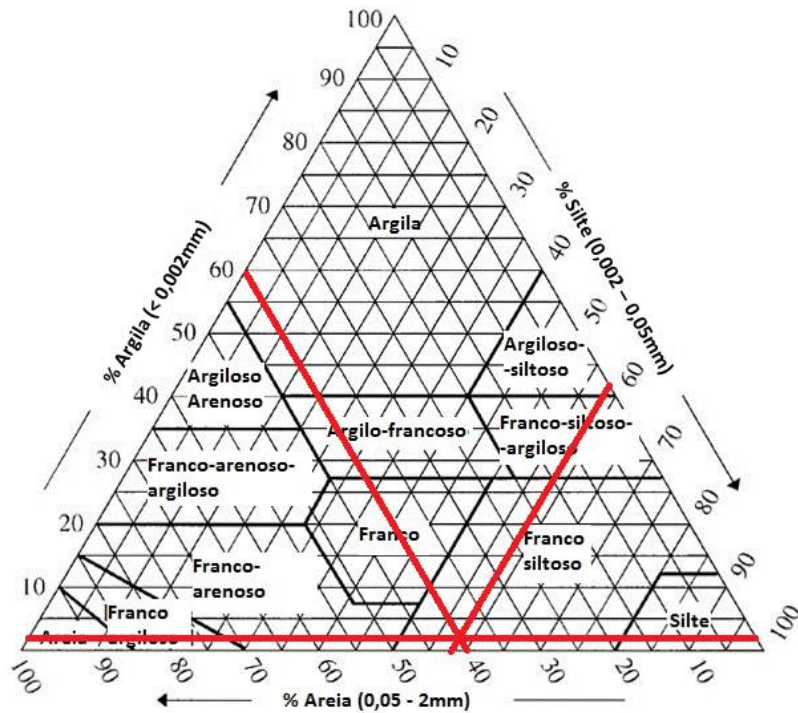


Figura 23 – Textura do solo para S2 com salicórnica.

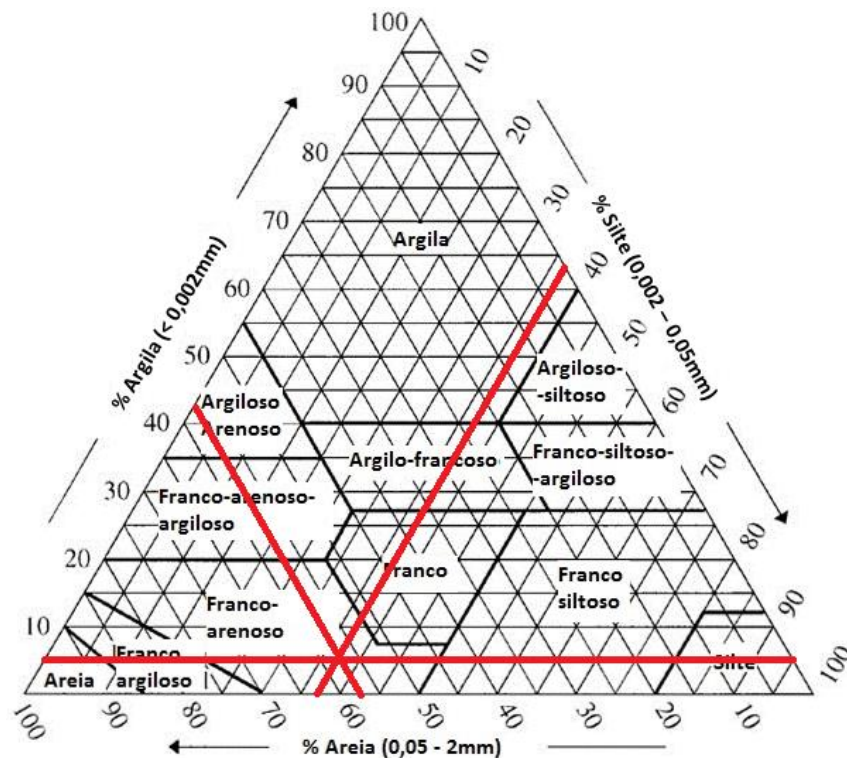


Figura 24 – Textura dos solos para S2+.

Os resultados para a granulometria apresentados nas **Figura 20** a **Figura 24** permitem concluir que a salicórnica nasce com maior abundância nos solos com textura franco-siltoso e que nos solos franco-arenosos o seu crescimento é deficiente ou nulo.

Em conclusão, o parâmetro que parece ter uma maior influência no crescimento da salicórnica é o tipo de solo, o qual se sobrepõe ao efeito do aumento da temperatura, durante a primavera e início do Verão.

5.5. Análise de metais pesados

5.5.1. Solos

Tabela 2 – Valores de metais pesados nos diferentes solos.

Limite Quantificação	< 0,5	< 0,5	<0,25	< 0,1	< 0,5	< 1	< 2	<1	< 0,2	< 2
Elemento	V	Cr	Mn	Co	Ni	Cu	Zn	As	Cd	Pb
Concentração	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g	µg/g
Controlo	15	9	126	2,5	7	7	75	4	< 0,2	27
Duplicado										
Controlo	17	11	82	2,7	8	7	44	4	< 0,2	29
S1	28	21	137	4,0	12	8	63	8	< 0,2	31
S2	15	10	75	2,4	7	5	49	3	< 0,2	27
S2+	29	20	72	4,3	13	8	48	6	< 0,2	41
Diretiva 86/278/EEC (19)	-	50	-	-	30	50	150	-	1	50

Como se pode observar na **Tabela 2**, todos os valores relativos aos metais pesados, nos solos, estão abaixo dos valores regulamentares e, como tal todos os solos se encontram legislativamente aceitáveis para cultivo.

5.5.2. Plantas

Tabela 3 - Valor de metais pesados para a amostra fresca de salicórnia.

Amostra	Valores para amostra fresca (ug/g)																		% humidade
	Be	B	P	V	Cr	Mn	Co	Ni	Cu	Zn	As	Rb	Sr	Cd	Sb	Ba	Cs	Pb	
S2+ Raíz	0,08	5,02	151,80	1,44	1,15	8,01	0,33	0,66	1,15	6,58	1,20	3,23	9,33	0,02	0,04	6,34	0,22	2,39	88,04
S2+ Aéreas	0,01	2,34	143,57	0,19	0,33	1,30	0,05	0,15	0,68	7,20	0,28	0,59	4,69	0,01	0,01	0,70	0,02	0,21	91,32
S2 Raíz	0,09	4,08	84,35	1,26	1,65	9,80	0,29	0,67	1,07	7,57	0,47	2,72	7,18	0,02	0,05	5,14	0,18	2,14	90,29
S2 Aéreas	0,03	2,81	115,41	0,43	0,63	2,81	0,10	0,32	0,92	10,74	0,36	0,97	6,57	0,05	0,02	1,36	0,05	0,69	89,57
S1 Raíz	0,13	5,96	159,99	2,03	1,62	16,51	0,32	0,76	1,11	4,74	2,44	5,14	8,80	0,01	0,02	10,56	0,38	1,12	86,46
S1 Aéreas	0,02	2,60	104,22	0,37	0,49	3,12	0,05	0,18	0,61	3,05	0,43	0,89	3,94	0,00	0,01	1,56	0,06	0,20	92,57
Controlo Raíz	0,10	9,08	271,54	1,93	1,64	5,99	0,39	2,90	6,57	7,54	0,83	4,45	13,14	0,03	0,08	7,73	0,29	6,76	80,67
Controlo Aéreas	0,002	1,81	315,81	0,08	0,19	3,20	0,03	0,11	0,80	4,18	0,25	0,47	2,63	0,01	0,00	0,25	0,00	0,04	91,79
Reg (CE) n.º 1881/2006*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,05	-	-	-	0,30	-

* Valores para produtos hortícolas (Cd) e brássicas (Pb)(47).

Como podemos observar na **Tabela 3**, apenas os valores de cádmio e de chumbo estão regulamentados para os metais pesados.

A legislação existente para metais pesados, não inclui as plantas halófitas, como a salicórnia. Para comparação utilizou-se para o Cd os valores encontrados para os produtos hortícolas e para o Pb as brássicas.

Para o caso do cádmio estes valores estão abaixo dos regulamentados pela legislação para os produtos hortícolas, já no caso do chumbo só as partes aéreas do Campo S2 ultrapassam o valor da legislação para as brássicas. Contudo e como o consumo de couves e brássicas no geral é muito mais alto do que o de salicórnia, isto não deve representar um fator de risco.

No caso das raízes os valores de Pb são elevados contudo, não sendo estas para consumo, isto não representa um problema e é um fator que só vem comprovar a fito-remediação descrita, atribuída às raízes das plantas halófitas.

5.6. Análise dos picos de IV médio

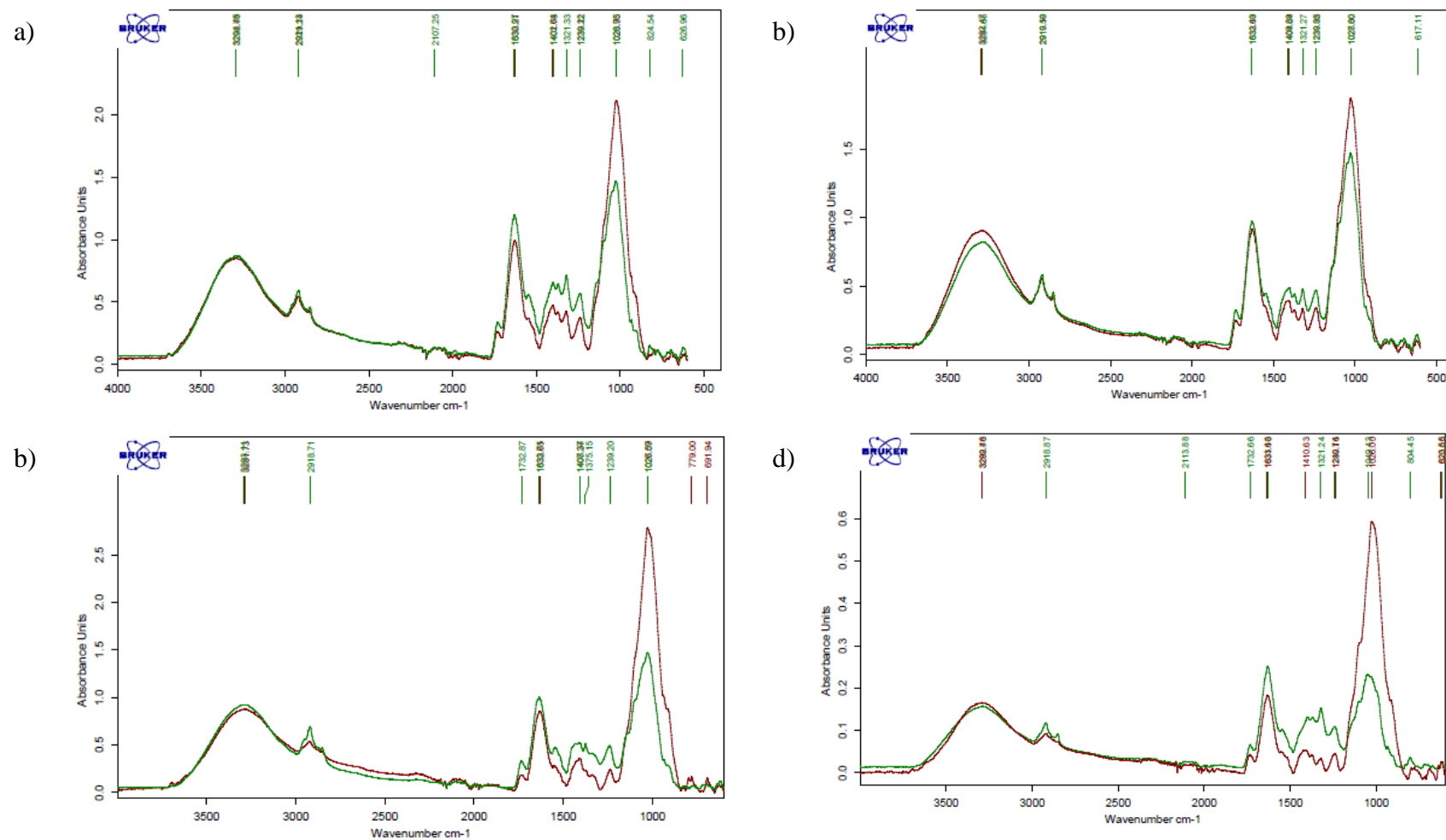


Figura 25 - Espectros de infravermelho médio apara cada um dos Campos; a) S2+ - 2 meses; b) S2 - 2 meses e meio; c) S1 - 4 meses; d) Controlo

A **Tabela 4** apresenta a atribuição dos picos mais importantes no espectro de IV.

Tabela 4 – Atribuição de bandas de infravermelho médio.

1028 cm^{-1}	<ul style="list-style-type: none"> • C-O estiramento em celulose;
1000-1200 cm^{-1}	<ul style="list-style-type: none"> • C-O estiramentos em polissacarídeos
1238 cm^{-1}	<ul style="list-style-type: none"> • C-O estiramento em ésteres • C-O estiramento em ácidos carboxílicos
1321 cm^{-1}	<ul style="list-style-type: none"> • C-H em celulose;
1371 cm^{-1}	<ul style="list-style-type: none"> • C-O estiramento; • C-H deformação;
1401 cm^{-1}	<ul style="list-style-type: none"> • COO estiramento simétrico ; • CH₃ deformação simétrica; • CH deformação
1548 cm^{-1}	<ul style="list-style-type: none"> • Amida II ligação peptídica - NH deformação em amida secundária
1632 cm^{-1}	<ul style="list-style-type: none"> • Amide I, ligação peptídica
1732 cm^{-1}	<ul style="list-style-type: none"> • C=O em ésteres;
2851 cm^{-1}	<ul style="list-style-type: none"> • C-H estiramento simétrico em grupo metileno;
2919 cm^{-1}	<ul style="list-style-type: none"> • C-H estiramento assimétrico em grupo metileno;
3298 cm^{-1}	<ul style="list-style-type: none"> • O-H estiramento em álcoois, polissacarídeos e água

Pela análise visual dos espectros (**Figura 25 a) a d)**) é possível apreciar que genericamente as raízes apresentam maior teor de polissacarídeos do que as partes aéreas, como pode ser observado ao comparar as intensidades da banda com máximo a 1028 cm^{-1} . Este aumento acentua-se com a idade das plantas. As partes aéreas deram positivo ao teste do iodo, confirmando a presença de amido, enquanto as raízes não apresentaram qualquer tipo de reação com o iodo.

Tanto as partes aéreas como as raízes apresentam picos que podem ser atribuídos a gordura, nomeadamente os picos a 2918 e 2851 cm^{-1} , atribuídos ao estiramento de grupos

metileno e o de 1732 cm^{-1} que pode ser atribuído a ésteres. Nota-se que quando as plantas são mais velhas há um incremento na intensidade destes picos na parte aérea.

Igualmente é de salientar que quando nas plantas mais jovens há uma maior proporção de compostos considerados como sacarídeos-polissacarídeos (banda a 1028 cm^{-1}) em relação à zona considerada das proteínas (bandas Amida I e Amida II a 1663 e 1536 cm^{-1} respetivamente). Isto é especialmente visível no espectro das partes aéreas da planta controlo.

5.7. Análise de açúcares

Tabela 5 – Valores de percentagem molar para diferentes açúcares presentes na salicórnia.

Hidratos de Carbono	Réplica A1	Réplica A2	Partes aéreas	Réplica R1	Réplica R2	Raízes
	% molar	% molar	Média (aéreas)	% molar	% molar	Média (raízes)
Ramnose	0,90	1,09	1,00	0,35	0,39	0,37
Fucose	0,15	0,23	0,19	0,01	0,05	0,03
Arabinose	16,93	15,71	16,32	24,26	24,27	24,26
Xilose	3,78	3,83	3,80	14,96	14,91	14,93
Manose	3,86	3,80	3,83	2,04	1,84	1,94
Galactose	8,40	7,18	7,79	7,59	7,89	7,74
Glucose	47,62	51,09	49,35	38,05	36,60	37,32
Ácidos urónicos	18,36	17,07	17,72	12,75	14,04	13,39

Os resultados da análise de açúcares (**Tabela 5**) mostram que as partes aéreas contêm uma maior quantidade de glucose do que as raízes, o que pode levar à conclusão da existência de amido, tendo em conta a prova positiva ao teste de iodo. Contudo mesmo que toda a glucose fosse amido este não se encontraria em quantidade superior ao 50% do total de açúcares totais.

Os açúcares mais abundantes para além da glucose, associado com o amido, nas partes aéreas são os ácidos urónicos a arabinose e a galactose, o que pode ser assumido como sendo originado pela presença de substâncias pécticas. Já na raiz, a presença de 37 % de glucose pode ser associada em primeira instância à celulose, enquanto os teores de arabinose, xilose e ácidos urónicos, podem permitir especular sobre a existência de

glucoronoarabinoxilanas. Os dados não permitem tirar mais conclusões, todavia a composição encontrada apresentasse como muito interessante, para um estudo posterior, também em relação a sua possível interação com metais pesados, tal como o chumbo. As glucoronoarabinoxilanas têm sido associadas à resistência ao alto turgor ocasionado pela acumulação de ácido málico em plantas CAM (48). Não é de excluir que neste caso, este tipo de composto se encontre presente nas paredes celulares e confira uma maior resistência às paredes celulares face à salinidade.

VI. Conclusão

A salicórnia é uma planta com grande importância para a empresa, visto que se encontra muito em voga, principalmente no estrangeiro, por ser uma planta com um elevado valor *gourmet*. Em Portugal, a salicórnia está cada vez mais a ser explorada, por intermédio de empresas como a Ilha dos Puxadoiros®, que valorizam a sua riqueza em compostos lipofílicos, nomeadamente ácidos gordos $\omega - 3$ e $\omega - 6$, como também as suas propriedades organoléticas (sabor salgado).

A salicórnia nasceu mais acentuadamente em locais cujo solo é franco – siltoso, enquanto no caso do franco – arenoso teve um crescimento deficiente ou nulo.

Os solos não apresentam motivo de preocupação relativo aos metais pesados presentes, estando os seus teores de Cd e Pb conforme os parâmetros legislados para solos de cultivo. Em relação à planta não foram encontrados valores na legislação para as halófitas. Foi feita uma comparação com os valores de Cd e Pb encontrados na legislação para as brássicas e os produtos hortofrutícolas. A parte comestível da salicórnia contém valores mais baixos de Pb do que o legislado para as brássicas, com exceção das plantas do campo S2, no qual duplica esta concentração. Contudo tem de se considerar que a quantidade em gramas de brássicas que são consumidas por dia, por um consumidor comum, ultrapassa em muito o que é consumido de salicórnia. Desta forma a ingestão de Pb através de salicórnia não representa motivo de preocupação.

As raízes, como era de esperar, apresentam acumulação de Pb. Isto vem comprovar o anteriormente descrito por outros autores, em como a salicórnia é um ótimo fito-remediador. Desta forma, e visto que nem os solos nem os sedimentos da Ilha apresentam valores altos de Pb, o cultivo continuado de salicórnia com separação das raízes e não reutilização destas como adubo nos campos pode levar a uma diminuição do teor de Pb circulante.

O seguimento do crescimento das plantas de salicórnia permitiu concluir que é possível semear as plantas em diversas alturas do ano, permitindo uma maior oferta de produto durante mais tempo ao longo do ano. Por outro lado, o controlo do início do crescimento das plantas permite não haver misturas de plantas mais velhas e mais novas, contendo todas elas a mesma altura e permitindo assim um melhor controlo da qualidade do

Conclusão

produto da salicórnia fresca. É importante definir quais são os terrenos mais apropriados para a produção, visto ter-se demonstrado que os solos franco-arenosos não são adequados para o crescimento da salicórnia.

VII. Trabalhos futuros

Para estudos futuros dever-se-á analisar a salicórnia em termos de ácidos gordos, em função do tipo de solo.

Por outro lado, seria de todo o interesse para a empresa, perceber quais os compostos existentes nas partes aéreas da salicórnia que não são utilizáveis para a comercialização como comestível.

Estudar o pó de salicórnia em termos nutricionais e aperfeiçoar o aparelho utilizado para a moagem da salicórnia.

Por fim, tentar contruir uma maquinaria que permita cortar/apanhar a salicórnia, visto que este processo é muito custoso no que se refere à própria apanha.

VIII. Referências bibliográficas

1. Ilha dos Puxadoiros. Ilha dos Puxadoiros - Sal do Sol [Internet]. [cited 2015 Feb 2]. Available from:
http://www.saldosol.net/home/index.php?option=com_content&view=article&id=12&Itemid=6
2. Ilha dos Puxadoiros. Ilha dos Puxadoiros - Sal do Sol [Internet]. [cited 2015 Feb 2]. Available from:
http://www.saldosol.net/home/index.php?option=com_content&view=article&id=11&Itemid=20
3. Duck, R. W., Silva, J. F. Coastal lagoons and their evolution: A hydromorphological perspective. *Estuar Coast Shelf Sci.* 2012 Sep;110:2–14.
4. Lopes C. L, Silva, P. A., Dias, J. M., Rocha, A., Picado, A., Plecha, S., Fortunato, A. B. Local sea level change scenarios for the end of the 21st century and potential physical impacts in the lower Ria de Aveiro (Portugal). *Cont Shelf Res.* 2011 Sep;31(14):1515–26.
5. Silva, M. S. B. O Salgado de Aveiro: Importância conservacionista e perspectivas de uso futuro. 2007;
6. Miguel, J., Marinheiro, S. Assoreamento da Ria de Aveiro – Causas e Soluções. 2008;
7. Valentim, J.M., Vaz, N., Silva, H., Duarte, B., Caçador, I., Dias, J. M. Tagus estuary and Ria de Aveiro salt marsh dynamics and the impact of sea level rise. *Estuar Coast Shelf Sci.* Elsevier Ltd; 2013 Sep;130:138–51.
8. Fortunato, A. B., Rodrigues, M., Dias, J. M., Lopes, C., Oliveira, A. Generating inundation maps for a coastal lagoon: A case study in the Ria de Aveiro (Portugal). *Ocean Eng.* 2013 May;64:60–71.
9. Silva, H., Dias, J. M., Caçador, I. Is the salt marsh vegetation a determining factor in the sedimentation processes? *Hydrobiologia.* 2009;621:33–47.
10. Boon, J. D. Secrets of the Tide: Tide and Tidal Current Analysis and Applications, Storm Surges and Sea Level Trends. In: *Secrets of the tide: Tide and Tidal Current Analysis and Applications, Storm Surges and Sea Level Trends.* Woodhead Publishing Limited; 2011. p. 8.

Referências bibliográficas

11. Boon, J. D. Secrets of the Tide: Tide and Tidal Current Analysis and Applications, Storm Surges and Sea Level Trends. In: Secrets of the Tide: Tide and Tidal Current Analysis and Applications, Storm Surges and Sea Level Trends. Woodhead Publishing Limited; 2011. p. 9–13.
12. Boon, J. D. Secrets of the Tide: Tide and Tidal Current Analysis and Applications, Storm Surges and Sea Level Trends. In: Secrets of the Tide: Tide and Tidal Current Analysis and Applications, Storm Surges and Sea Level Trends. Woodhead Publishing Limited; 2011. p. 13–4.
13. Boon, J. D. Secrets of the Tide: Tide and Tidal Current Analysis and Applications, Storm Surges and Sea Level Trends. In: Secrets of the Tide: Tide and Tidal Current Analysis and Applications, Storm Surges and Sea Level Trends. Woodhead Publishing Limited; 2011. p. 14–5.
14. Boon, J. D. Secrets of the Tide: Tide and Tidal Current Analysis and Applications, Storm Surges and Sea Level Trends. In: Secrets of the Tide: Tide and Tidal Current Analysis and Applications, Storm Surges and Sea Level Trends. Woodhead Publishing Limited; 2011. p. 16.
15. Boon, J. D. Secrets of the Tide: Tide and Tidal Current Analysis and Applications, Storm Surges and Sea Level Trends. In: Secrets of the Tide: Tide and Tidal Current Analysis and Applications, Storm Surges and Sea Level Trends. Woodhead Publishing Limited; 2011. p. 17–8.
16. Surgery, D. Principles and practice of soil science: the soil as a natural resource. Souba, WW, Fink, MP, Jurkovich, GJ, et al., Eds. 1996. 3 p.
17. Groenendyk, D. G., Ferre, T. P. A., Thorp, K. R., Rice, A. K. Hydrologic-Process-Based Soil Texture Classifications For Improved Visualization of Landscape Function. PLoS One. 2015;1–16.
18. Carmen, A., Costa, P. How do salinity and heavy metal contamination affect *Salicornia ramosissima* and the Cadmium accumulation capacity? 2011.
19. DIRECTIVA DO CONSELHO de 12 de Junho de 1986 relativa à protecção do ambiente, e em especial dos solos, na utilização agrícola de lamas de depuração (86 / 278 / CEE). 1986;(2):7.

20. Troyo-Diéíguez, E., Ortega-Rubio, A., Maya, Y., León, J. L. The effect of environmental conditions on the growth and development of the oilseed halophyte *Salicornia bigelovii* Torr. in arid Baja California Sur, México. *J Arid Environ.* 1994 Nov;28(3):207–13.
21. Julião, M. R. A. Avaliação do potencial da *Salicornia ramosissima* para saladas frescas ou e pó (sal verde). 2013;
22. Rolo, V. L. M. da S. Intervenção no sapal oeste da vila de Alvor: um exemplo de recuperação? 2007;
23. Zealand, N. *Plants in action*. 2010. p. 6–7.
24. Silva, H., Caldeira, G., Freitas, H. *Salicornia ramosissima* population dynamics and tolerance of salinity. *Ecol Res.* 2006 Aug 30;22(1):125–34.
25. Seca, A. M. L., Silva, A. M. S. An Overview of *Salicornia* Genus : The Phytochemical and Pharmacological Profile.
26. Jefferies, R. L., Davyt, A. J. Population biology of the salt marsh annual *salicornia europaea* agg. 1981;
27. Salazar, M., Santos, E., Pacheco, J. Estudo da propagação e cultivo sustentável de halófitas. Projecto: cultivo sustentável de halófitas na reserva de Catro Marim e Vila Real de Santo António.
28. Davy, A. J., Bishop, G. F., Costa, C. S. B. *Salicornia* L. (*Salicornia pusilla* J. Woods, *S. ramosissima* J. Woods, *S. europaea* L., *S. obscura* P.W. Ball & Tutin and *S. dolichostachya* Moss). 2015;89(4):681–707.
29. Sutherland, S. What makes a weed a weed: life history traits of native and exotic plants in the USA. *Oecologia.* 2004 Sep;141(1):24–39.
30. Ventura, Y., Wuddineh, W. A., Shpigel, M., Samocha, T. M., Klim, B.C., Cohen, S., Shemer, Z., Santos, R., Sagi, M. Effects of day length on flowering and yield production of *Salicornia* and *Sarcocornia* species. *Sci Hortic (Amsterdam).* Elsevier B.V.; 2011 Sep;130(3):510–6.
31. Haston, E., De Craene, L. P. R. Inflorescence and floral development in *Streptocarpus* and *Saintpaulia* (Gesneriaceae) with particular reference to the impact

Referências bibliográficas

- of bracteole suppression. *Plant Syst Evol.* 2007 Apr 11;265(1-2):13–25.
32. Shepherd, K. A., Macfarlane, T. D., Colmer, T. D. Morphology, anatomy and histochemistry of *Salicornioideae* (Chenopodiaceae) fruits and seeds. *Ann Bot.* 2005 May;95(6):917–33.
33. Isca, V. M. S. *Salicornia ramosissima* J. Woods: Estudo fitoquímico das partes aéreas. 2013;
34. Catalogue of life [Internet]. [cited 1015 Feb 3]. Available from: <http://www.catalogueoflife.org/col/details/reference/synonym/16325111>
35. Catalogue of life [Internet]. [cited 2015 Feb 3]. Available from: <http://www.catalogueoflife.org/col/details/reference/species/16327381>
36. Catalogue of life [Internet]. [cited 1015 Feb 3]. Available from: <http://www.catalogueoflife.org/col/details/reference/synonym/16324800>
37. Isca, V. M. S., Seca, A. M. L., Pinto, D. C. G. A., Silva, H., Silva, A. M. S. Lipophilic profile of the edible halophyte *Salicornia ramosissima*. *Food Chem.* Elsevier Ltd; 2014 Dec 15;165:330–6.
38. Gall, H., Philippe, F., Domon, J., Gillet, F., Pelloux, J., Rayon, C. Cell Wall Metabolism in Response to Abiotic Stress. *Plants.* 2015;4(1):112–66.
39. Schooneveld-Bergmans, M. E. F., Beldman, G., Voragen, A. G. J. Structural Features of (Glucurono)Arabinoxylans Extracted from Wheat Bran by Barium Hydroxide. *J Cereal Sci.* 1999;29(1):63–75.
40. Infrared Spectroscopy : Theory. In 2002. p. 155–64.
41. Movasaghi, Z., Rehman, S., ur Rehman, D. I. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy of Biological Tissues. *Appl Spectrosc Rev.* 2008;43(2):134–79.
42. Silva, I. M. Implementação da análise de metais em biodiesel Santos por ICP-OES. 2009;42–3.
43. Tábua de Marés [Internet]. [cited 2015 Feb 3]. Available from: <http://www.tabuademares.com/pt/aveiro/lota>
44. Selvendran, R. R.; March, J. F.; Ring, S. G. Determination of aldoses and uronic acid content of vegetable fiber. *Anal Biochem.* 1979;96(2):282–92.

45. Coimbra, M. A., Delgadillo, I., Waldron, K.W., Selvendran, R. R. Isolation and analysis of cell wall polymers from olive pulp. *Mod Methods Plant Anal.* 1996;17:19–44.
46. Claessen, M. E. C., Barreto, W. O., Paula, J. L., Duarte, M. N. Manual de Métodos de Análise de Solo. Embrapa. 1997. 7-9 p.
47. Regulamento (CE) N.º 1881/2006 da comissão de 19 de Dezembro de 2006. 2006;2006(8):5–24.
48. Ceusters, J., Londers, E., Brijs, K., Delcour, J. A., Proft, M. P. Glucoronarabinoxylan structure in the walls of Aechmea leaf chlorenchyma cells is related to wall strength. *Phytochemistry.* 2008;69(2):2307–11.

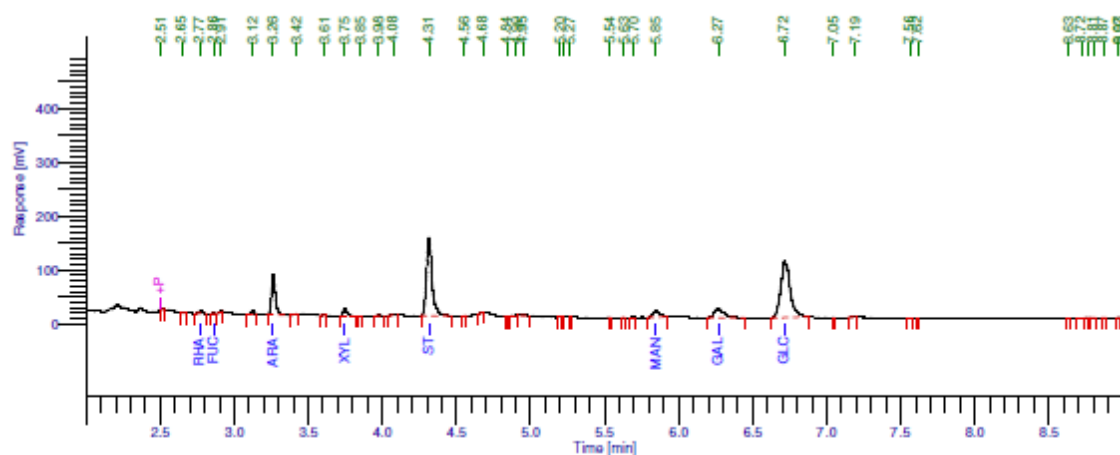
IX. Anexos

Software Version : 6.3.1.0504
 Sample Name : A1
 Instrument Name : CR1
 Rack/Vial : 0/0
 Sample Amount : 1.000000
 Cycle : 1

Date : 11/18/2015 1:15:49 PM
 Data Acquisition Time : 11/18/2015 12:40:41 PM
 Channel : A
 Operator : Manager
 Dilution Factor : 1.000000

Result File : c:\rita bastos\soraia\A1_001.rst

Sequence File : C:\Documents and Settings\Manager\Desktop\SORAIA.seq



Sugar Analysis

Peak #	Time [min]	Component Name	Area [μV·s]	Height [μV]	Area [%]
3	2.772	Rha	7966.28	5081.22	0.70
4	2.862	Fuc	1304.10	1332.41	0.11
7	3.263	Ara	135041.10	73304.63	11.81
10	3.746	Xyl	30141.66	15438.23	2.64
14	4.315	St	382938.88	144442.74	33.48
26	5.845	Man	37773.20	11703.43	3.30
27	6.270	Gal	82246.30	16782.59	7.19
28	6.715	Glc	466227.03	105127.18	40.77
			1143638.55	373212.42	100.00

Missing Component Report
 Component Expected Retention (Calibration File)

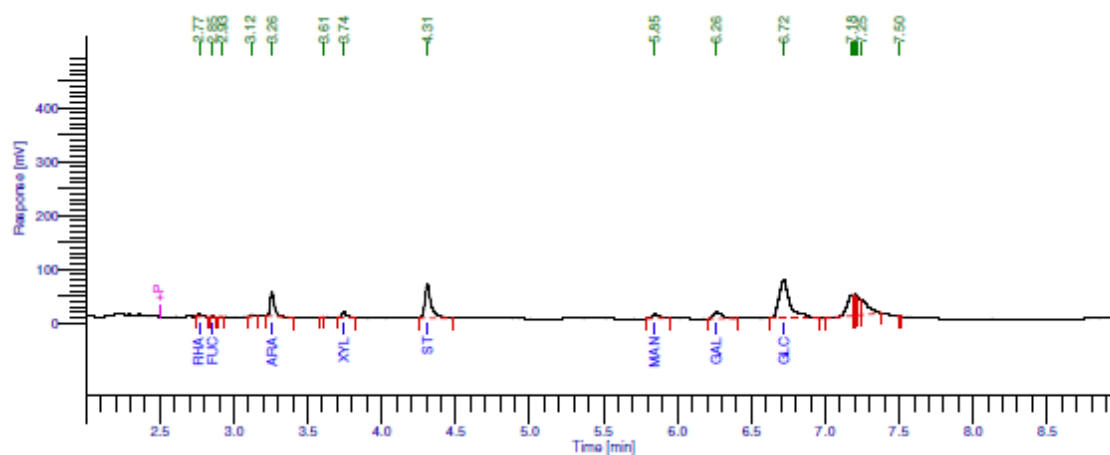
All components were found

Anexo 1 – Tempos de retenção para a análise à amostra 1 das partes aéreas de açúcares

Software Version : 6.3.1.0504
 Sample Name : A2
 Instrument Name : CR1
 Rack/Vial : 0/0
 Sample Amount : 1.000000
 Cycle : 2

Date : 11/18/2015 1:16:59 PM
 Data Acquisition Time : 11/18/2015 12:47:19 PM
 Channel : A
 Operator : Manager
 Dilution Factor : 1.000000

Result File : c:\rita bastos\soraia\A2_002.rst
 Sequence File : C:\Documents and Settings\Manager\Desktop\SORAIA.seq



Sugar Analysis

Peak #	Time [min]	Component Name	Area [μV·s]	Height [μV]	Area [%]
1	2.765	Rha	7200.98	3824.08	0.95
2	2.853	Fuc	1486.00	1100.43	0.20
5	3.257	Ara	93500.67	45086.98	12.31
7	3.744	Xyl	22795.90	10709.84	3.00
8	4.309	St	181238.08	63924.62	23.86
9	5.849	Man	27791.49	7859.47	3.66
10	6.263	Gal	52407.01	12385.44	6.90
11	6.721	Glc	373126.74	73011.61	49.12
			759546.87	217902.48	100.00

Missing Component Report
 Component Expected Retention (Calibration File)

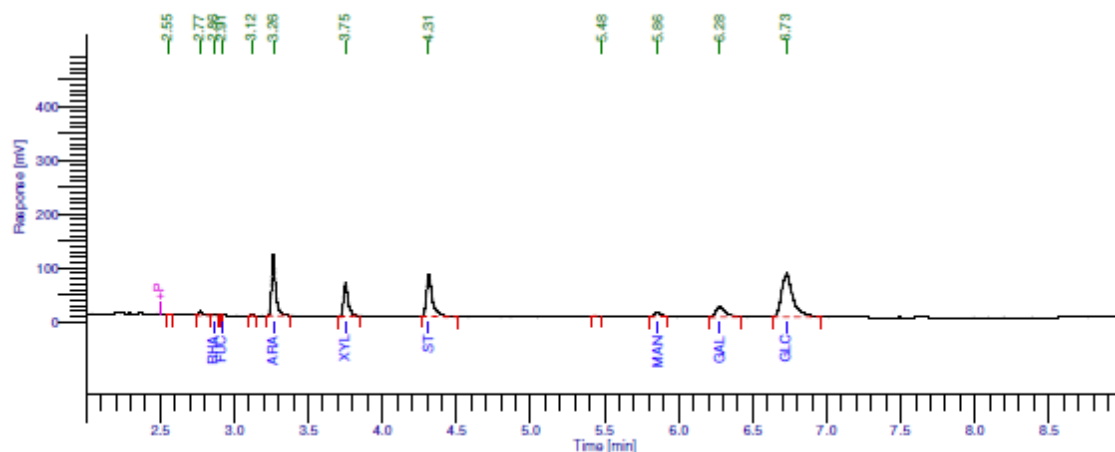
All components were found

Anexo 2 - Tempos de retenção para a análise à amostra 2 das partes aéreas de açúcares.

Software Version : 6.3.1.0504
 Sample Name : R1
 Instrument Name : CR1
 Rack/Vial : 0/0
 Sample Amount : 1.000000
 Cycle : 3

Date : 11/18/2015 1:22:52 PM
 Data Acquisition Time : 11/18/2015 1:04:08 PM
 Channel : A
 Operator : Manager
 Dilution Factor : 1.000000

Result File : c:\rita bastos\soraia\r1_003.rst
 Sequence File : C:\Documents and Settings\Manager\Desktop\SORAIA.seq



Sugar Analysis

Peak #	Time [min]	Component Name	Area [μV-s]	Height [μV]	Area [%]
3	2.859	Rha	3539.35	2493.56	0.32
4	2.915	Fuc	88.66	114.41	0.01
6	3.264	Ara	220631.65	114081.61	19.83
7	3.751	Xyl	136050.22	63274.49	12.23
8	4.313	St	220156.31	76955.50	19.79
10	5.858	Man	22730.41	6988.08	2.04
11	6.276	Gal	84753.93	19161.15	7.62
12	6.732	Glc	424660.24	81004.08	38.17
			1112610.77	364072.89	100.00

Missing Component Report
 Component Expected Retention (Calibration File)

All components were found

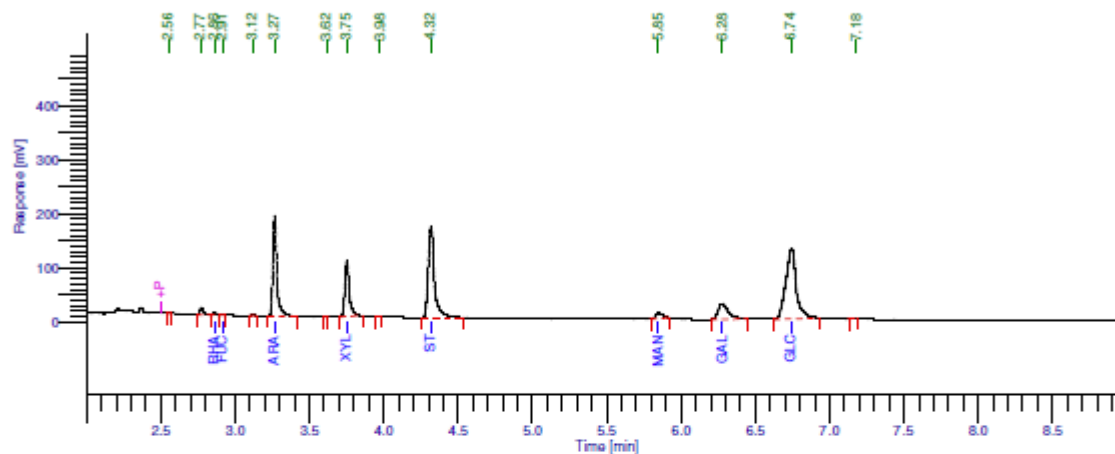
Anexo 3 - Tempos de retenção para a análise à amostra 1 das raízes de açúcares.

Software Version : 6.3.1.0504
 Sample Name : R2
 Instrument Name : CR1
 Rack/Vial : 0/0
 Sample Amount : 1.000000
 Cycle : 4

Date : 11/18/2015 1:29:43 PM
 Data Acquisition Time : 11/18/2015 1:16:47 PM
 Channel : A
 Operator : Manager
 Dilution Factor : 1.000000

Result File : c:\rita bastos\sorais\vr2_004.rst

Sequence File : C:\Documents and Settings\Manager\Desktop\SORAIIA.seq



Sugar Analysis

Peak #	Time [min]	Component Name	Area [μV·s]	Height [μV]	Area [%]
3	2.860	Rha	6152.03	4786.70	0.33
4	2.913	Fuc	862.81	758.83	0.05
6	3.266	Ara	345174.52	186173.28	18.57
8	3.752	Xyl	212063.87	103481.21	11.41
10	4.318	St	485446.35	168569.64	26.12
11	5.849	Man	32062.55	10679.93	1.73
12	6.280	Gal	137790.22	29355.94	7.41
13	6.744	Glc	638915.03	128955.71	34.38
			1858467.38	632761.25	100.00

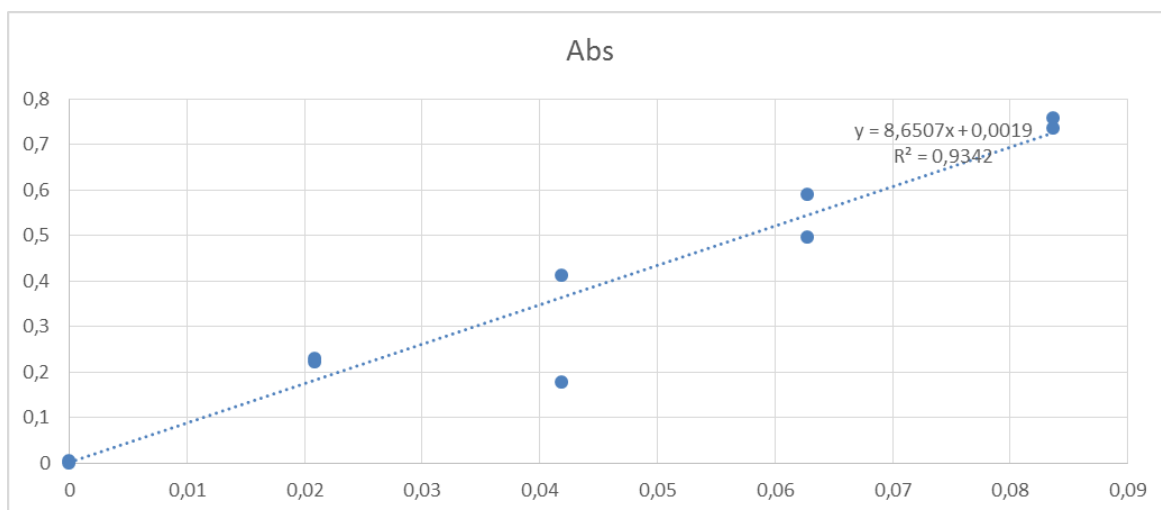
Missing Component Report

Component Expected Retention (Calibration File)

All components were found

Padrão B	Padrão R1	Padrão R2	Amostras Branco	R1	R2	Amostras
0,046	0,046	0,051	0,084	0,203	0,204	R1
0,048	0,278	0,271	0,07	0,157	0,178	R2
0,048	0,462	0,227	0,059	0,156	0,146	A1
0,047	0,545	0,638	0,071	0,183	0,211	A2
0,048	0,807	0,784				

Anexo 5 – Valores das absorvâncias das amostras de raízes e partes aéreas, para análise de ácidos urónicos.



Anexo 6 – Reta de calibração para os ácidos urónicos.

Anexos

Grupos	média(t1)	média(t2)	média(t3)	média(t4)	média(t5)	média(t6)	média(t7)	média(t8)	média(t9)	média(t10)	média(t11)	média(t12)	média(t13)	média(t14)	média(t15)	média(t16)
S1-1	4,7	5,7	6,5	7,6	8,6	9,4	9,9	10,5	11,1	11,5	12,0	12,6	12,8	13,1	13,4	13,5
S1-2	3,7	4,6	5,2	6,1	6,9	7,6	8,0	8,6	8,1	8,3	8,4	8,3	8,4	8,7	8,8	9,0
S1-3	5,8	6,8	7,6	8,8	9,7	10,6	11,1	11,6	11,8	12,1	12,3	12,5	12,5	12,6	12,7	12,7
S2-1	2,9	3,6	4,2	4,9	5,8	6,4	6,9	7,6	8,2	8,7	9,2	9,9	10,5	10,9	11,3	11,6
S2-2	1,2	1,5	1,7	2,2	2,6	3,1	3,5	4,1	4,5	5,0	5,6	6,3	6,8	7,1	7,6	7,9
S2-3	1,0	1,3	1,6	1,8	2,0	2,3	2,7	3,1	3,5	4,0	4,2	4,7	5,0	5,2	5,6	5,7
S2+-1	0,6	0,8	0,7	1,4	1,6	1,8	2,2	2,5	2,9	3,3	3,8	4,1	4,5	4,9	5,3	5,7
S2+-2	0,2	0,3	0,3	0,4	0,4	0,5	0,6	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	1,1	1,1	1,2	1,3
S2+-3	0,8	1,1	1,4	1,8	2,2	2,6	2,8	3,2	3,6	4,2	4,5	4,9	5,2	5,5	6,0	6,2
C1	10,2	12,3	13,0	14,2	15,1	16,3	16,9	17,6	16,3	18,8	19,2	19,6	19,9	20,2	20,0	20,2
C2	9,8	11,6	12,6	13,9	15,3	16,1	17,2	18,3	19,5	20,5	18,3	18,3	18,8	19,2	17,5	18,0
C3	11,3	13,3	14,7	16,4	17,9	19,5	20,6	21,8	22,9	24,1	25,1	23,9	24,6	24,6	25,4	22,6

Anexo 7 – Tabela das médias de altura das plantas em cada um dos quadrados.

Grupos	média (t1)	média (t2)	média (t3)	média (t4)	média (t5)	média (t6)	média (t7)	média (t8)	média (t9)	média (t10)	média (t11)	média (t12)	média (t13)	média (t14)	média (t15)	média (t16)
S1-1	26,3	27,3	27,5	27,8	27,5	27,3	23,8	21,0	21,0	19,0	17,8	17,8	17,8	17,8	17,8	17,3
S1-2	24,3	22,5	21,5	23,3	23,8	24,0	20,3	19,5	18,5	17,0	16,5	16,5	15,8	15,8	15,5	14,3
S1-3	22,5	19,3	22,8	23,0	23,5	23,0	22,3	21,5	21,3	20,3	18,8	17,8	17,8	17,8	17,8	17,8
S2-1	14,8	13,8	13,8	13,3	13,3	13,5	12,5	12,5	13,0	12,3	12,3	12,3	12,3	12,0	12,0	11,3
S2-2	1,5	1,0	1,0	1,3	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3
S2-3	0,3	0,3	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
S2+-1	0,5	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
S2+-2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
S2+-3	0,3	0,5	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
C1	12,5	12,5	13,0	13,0	11,8	11,3	11,3	11,0	10,0	9,0	8,8	8,8	8,8	8,5	8,5	8,3
C2	8,3	8,8	9,8	9,8	8,5	8,5	8,5	8,3	8,0	5,5	5,3	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
C3	6,3	7,5	7,5	7,0	6,5	6,5	6,3	5,8	5,8	5,3	4,5	4,3	4,3	4,3	4,0	4,0

Anexo 8 – Tabela das médias do número de plantas em cada um dos quadrados.